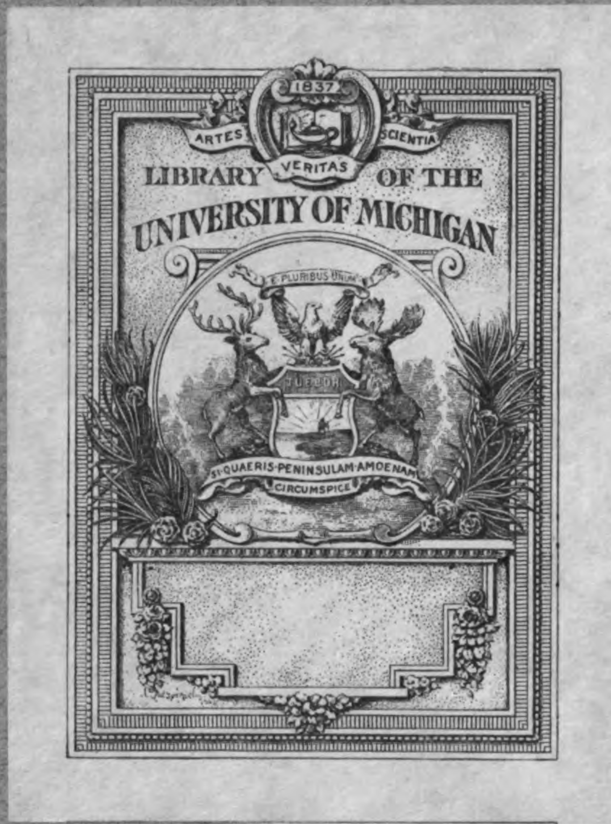

1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
TUEBOR
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

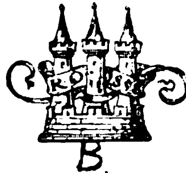
M. GRUBER, FR. HOFMANN, K. LEHMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

MÜNCHEN LEIPZIG WÜRZBURG BERLIN

DREIUNDSIEBZIGSTER BAND

Mit 7 Abbildungen und 1 Tafel



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1911

Inhalt.

	Seite
Experimentelle Studien über den Einfluß technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Teil XV. Studien über Arsenwasserstoff. Von Dr. L. O. Dubitzki, Assistent am Hygienischen Institut in Kiew. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg)	1
Über die Wirkung dauernd verabreichter kleiner Chininmengen auf die Entwicklung des tierischen Organismus und dessen Neigung zu Infektionskrankheiten. Beitrag zum Studium der Prophylaxis der Malaria. Von Dr. Albert Graziani, Dozent und Assistent am Hygienischen Institut der Universität Padua. (Direktor Prof. A. Serafini)	39
Über den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch. Von Dr. W. Rullmann. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber)	81
Nachruf auf Prof. Jos. Forster.	
Über Art und Herkunft der flüchtigen Basen von Kulturen des Bacterium Prodigiosum. Von D. Ackermann und H. Schütze. (Aus dem Physiologischen und dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg)	145
Über Stoffwechselvorgänge von Parasiten und Saprophyten, sowie über deren praktisch verwertbare Unterschiede behufs Differenzierung. Von Privatdozent Dr. Wolfgang Weichhardt. (Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Erlangen. Direktor: Prof. Dr. Heim)	153
Kritische Bewertung einiger Methoden zur Bestimmung der Härte des in der Natur vorkommenden Wassers. Die Wartha-Pfeiffersche Methode und ihre Modifikation. Von Assistent J. M. Silber. (Aus dem Hygienischen Laboratorium der Universität Charkow) . . .	171
Untersuchungen über das Verhalten niederer Krustazeen gegenüber Bakterien im Wasser. Von Dr. Clemens Hörhammer aus München. Mit Tafel I. (Aus dem Hygienischen Institut München, Laboratorium von Prof. Emmerich)	183

Seite

Über die entwicklungshemmende Wirkung einiger organischer Stoffe in Lösung und in Dampfform. Von Hermann Stadler, ehemaligem Assistenten am Institut. (Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt) 195

Beiträge zum Studium der Milzbrandinfektion. Von Prof. Dr. Oskar Bail und Privatdozent Dr. Edmund Weil. (Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der deutschen Universität Prag) 218

Das Schicksal der in die Blutbahn geschickten Bakterien. Von Dr. R. Arima, Professor extr. der Klinik. (Aus der Klinik für Phthisis der medizinischen Akademie in Osaka. Direktor: Prof. A. Sata 265

Sekretion, Kochsalzgehalt und Reaktion des Schweifses. Von stud. med. C. Kittsteiner, Würzburg. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg) 275

Experimentelle Studien über den Einflufs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Teil XVI, XVII, XVIII: Über einige praktisch wichtige Aldehyde (Formaldehyd, Acetaldehyd, Akrolein). Von Dr. N. Iwanoff, Assistent der K. militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg) 307

Untersuchungen über die Vibrioneninfektion des Meerschweinchens. Von Prof. Dr. Oskar Bail und Dr. S. Suzuki, (Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der deutschen Universität Prag 341

Über eine Fleischvergiftungsepidemie, bedingt durch den Genufs verschiedener Fleischwaren. Von med. pract. W. v. Gonzenbach und Dr. R. Klinger, Assistenten am Institut. (Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt) 380

Experimentelle Studien über den Einflufs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus.

XV. Studien über Arsenwasserstoff.

Von

Dr. **L. O. Dubitzki,**

Assistent am Hygienischen Institut in Kiew.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

I. Vorkommen des Arsenwasserstoffs in gewerblichen Betrieben und in der Haushaltung.

Sehr viele Körper, die in der Technik verwendet werden müssen, sind schwer vollständig arsenfrei zu bekommen, namentlich enthält das Zink, das Blei und gelegentlich auch andere Metalle, wie Eisen, gröfsere oder kleinere Arsenmengen. Die technisch angewandten Säuren, insbesondere die Schwefelsäure und Salzsäure, sind selten von Arsenspuren frei, nicht selten erheblich arsenhaltig (mehrfach sind 0,5 g Arsen pro 1 l gefunden). Sowie Metalle und Säuren zusammenkommen bei Anwesenheit von Arsen, mag dasselbe ursprünglich im Metall oder in der Säure gewesen sein, ist eine Arsenwasserstoffbildung zu erwarten. Es ist denn auch der technisch hergestellte Wasserstoff, wenn keine besonderen Vorsichtsmafsregeln beobachtet werden, in der Regel etwas arsenwasserstoffhaltig. Selbstverständlich sind auch die Prozeduren, bei denen Arsenwasserstoff als Nebenprodukt erzeugt wird, z. B. bei elektrischen Arbeiten mit unreinen

Metallen oder unreinen Säuren gesundheitsgefährlich. In der neuen Arbeit von Heim und H. A. Hébert (Zeitschr. f. Gewerbehygiene 1908, S. 229) sind nicht weniger als 20 Spezialgelegenheiten angegeben, bei denen in der Technik Arsenwasserstoff entsteht.

Die praktische Wichtigkeit der Arsenwasserstofffrage für die Technik erhellt am besten daraus, daſs vor zwei Jahren ein Preis ausgeschrieben wurde, für ein Mittel, das den technischen Wasserstoff von beigemischtem Arsenwasserstoff zu befreien gestatte und die vielen Berufsarten, welche mit technischem Wasserstoff arbeiten müssen, von der Gefahr einer Arsenwasserstoffvergiftung behüte. In neuester Zeit hat der technisch reine, das heiſst Arsenwasserstoff haltende Wasserstoff für die Luftschiffahrt eine ganz besondere Bedeutung erhalten, und es war nicht am wenigstens dieser Grund maſsgebend, daſs ich mit Freuden dem Vorschlag des Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann folgte, mich mit möglichst feiner Methodik dem Studium dieses furchtbar giftigen Gases von neuem zu widmen.

2. Bisherige Erfahrungen am Menschen über die Giftigkeit des Arsenwasserstoffs.

Eine Reihe von Chemikern, die mit Arsenwasserstoff mehr oder weniger vorsichtig gearbeitet haben, sind unter Bedingungen gestorben, die beweisen, daſs sehr kleine Mengen dieses Gases genügen, um oft nach längerer Latenzzeit eine schwere, oft tödliche, manchmal auch chronisches Siechtum hervorbringende Erkrankung zu erzeugen. Die erste gute Beobachtung stammt von Schindler (in v. Gräfes und v. Walters Journal, Bd. XXVI S. 624, 1838) und berichtet über einen Pharmazeuten, der in einem Zwischenraum von 40 Minuten zweimal an einer Woulfschen Flasche roch, in der aus 600 mg Arsenzink Arsenwasserstoff erzeugt wurde. Das Riechen war vorsichtig geschehen, das erste Riechen ohne jede Wirkung geblieben. Drei Stunden nach dem zweiten Riechen erkrankte er mit Schwindel, nach 4 Stunden trat Frost auf, drückende Schmerzen in der Nieren-

gegend, Schmerzen in den Knien, Kälte der Extremitäten. Nach 5 Stunden schneidende Schmerzen im Magen, ununterbrochenes Luftaufstofsen ohne Erleichterung, würgendes Erbrechen halbgrünen Schleims, gelbbraune Farbe des ganzen Körpers. Nach 8 Stunden Schweifs, nach dem reichlichen Genufs warmer Getränke Wiedereintritt des Lebensgefühls in den abgestorbenen Teilen unter heftigem Kriebeln und Niefsen. Am zweiten Tag Andauer der Erscheinungen, alle Haare auf den abgestorben gewesenen Teilen und die Augenbrauen sind schneeweifs geworden. Am fünften Tage war der Harn noch blutig ikterisch. Am sechsten Tag verschwand das Blut aus dem Harn, am siebenten wurden die weifsen Augenbrauen und die Haare wieder braun, unerträgliche Rückenschmerzen, Kriebeln in Armen und Beinen. Vom achten Tage an ging es erträglicher, nach drei Wochen vollständige Heilung unter Auftreten eines Herpes an Vorhaut und Eichel.

Seither sind zahlreiche Fälle beschrieben, Kobert kennt 1906 schon 50. Eine sehr gute ausführliche Zusammenstellung der akuten Arsenwasserstoffvergiftungen am Menschen gibt Geigy (Beitrag zur Kenntnis der Arsenwasserstoffvergiftung, Basler Dissertation 1890); er fügt zu 35 in der Literatur gefundenen Fällen zwei eigene. Ich habe noch weitere 16 Fälle von 7 Publikationsstellen gesammelt, die ich in der russischen Darstellung meiner Arbeit mitteilen werde. Es sind dies insgesamt 53 grofsenteils schwere Fälle.

Gestorben sind 16 Fälle, und zwar zwischen dem 2. und 30. Tage, am häufigsten ist der Tod am 3. bis 9. Tage.

Die Ursache der Vergiftung war: 8 mal die absichtliche Herstellung von Arsenwasserstoff, 28 mal die Herstellung und Einatmung von Wasserstoff aus unreinen Materialien, 3 mal die Einatmung unreinen Wasserstoffs der zur Füllung von Ballons gedient hatte, 9 mal Behandlung von Zinksilbermischung mit Salzsäure zur Silbergewinnung, 1 mal Metallätzerei und 5 mal andere chemische Manipulationen.

Die Symptome hat Geigy in so knapper und übersichtlicher Weise aus den tabellarisch angeordneten Protokollen ab-

geleitet, daſs ich nicht imstande bin, dies kürzer oder besser zu tun — ich gebe deshalb seine Darstellung wieder.

»Wir sahen, daſs meist, auch bei schweren Vergiftungsfällen, erst einige Zeit nach der Beschäftigung in arsenwasserstoffhaltiger Atmosphäre (in den meisten Fällen erst einige Stunden nachher) bei den betreffenden Personen Symptome einer Intoxikation aufgetreten sind.

Die Vergifteten bemerkten entweder erst auf dem Heimwege oder erst zu Hause, oder nachdem sie notorisch schon längere Zeit in dem Arbeitsraume das widerlich riechende Gas eingeatmet hatten, plötzlich ein Gefühl von Unwohlsein, Übelkeit, Brechreiz, Frösteln, oft begleitet von heftigem Kopfschmerz.

In den leichtesten Fällen gingen diese Symptome nach 1—2 Tagen vorüber, bis auf eine noch einige Zeit zurückbleibende Mattigkeit.

Bei schweren Fällen trat zu den ebenerwähnten Symptomen noch blutige Färbung des Urins auf, welches sogar in zwei Fällen das erste Krankheitssymptom bildete.

Die Patienten sind bald unfähig, sich aufrecht zu erhalten, leiden an Schwindelanfällen, Schüttelfrösten, klagen über entsetzliche Mattigkeit und Zerschlagenheit und fühlen sich überaus elend. Ihr Aussehen ist verfallen, blaſs. Der Puls frequent und klein. Die Temperatur anfangs subnormal, steigt bald in die Höhe zu mäſsigem Fieber. Nun stellt sich heftiges Brechen ein, wobei Speise, Galle, seltener Blut gebrochen wird. Nahrungsaufnahme unmöglich.

Allmählich treten Schmerzen an verschiedenen Stellen auf, gewöhnlich zuerst in der Nierengegend, dann im Epigastrium und in der Gegend der Leber, welche auf Druck sich empfindlich erweist. Milz und Leber sind perkussorisch als vergröſsert nachweisbar. Die Konjunktiven und die Haut beginnen sich zu verfärben und zeigen verschiedenartige Farbennuancen, die vom gelblichbraunen bis zum kupferbraunen variieren. Der Urin erweist sich zu dieser Zeit als gallenfarbstoffhaltig. Dies wird meist erst vom 2. Tag an beobachtet.

Fortdauer der Kopfschmerzen, des Brechens und der Leibschmerzen, häufige dünne, dunkelgefärbte Stühle, die auf Zusatz von rauchender Salpetersäure Farbenringe zeigen, und dadurch ihren intensiven Gehalt an Gallenfarbstoff kundgeben. Zuweilen stark gemütliche Aufregung und Unruhe, Schlaflosigkeit neben grofsem Bedürfnis nach Schlaf.

Entweder bleiben nun diese Symptome einige Zeit hindurch ungefähr in gleicher Intensität bestehen, ohne eine wesentliche Anderung zu zeigen, aufser, dafs die Hautfarbe wieder sich der normalen nähert und der Urin gallenfarbstoffrei wird, und es tritt erst nach geraumer Zeit eine Wendung zum Schlimmeren ein.

Diese gibt sich kund in Apathie bis zur völligen Benommenheit und in Delirien, vor allem aber in bedeutender Verminderung der Urinausscheidung. Es treten Ödeme und Konvulsionen auf; der Puls, der auffallend hart und kaum unterdrückbar war, wird gegen das Ende zu immer frequenter und kleiner, die Respiration eher verlangsamt und es tritt dann der Tod ein, im Mittel ca. $9^1/_4$ Tage nach stattgehabter Vergiftung.

Bei Fällen, die einen günstigen Ausgang nehmen, verschwindet allmählig der Blutfarbstoff aus dem Urine. Die Farbe der Haut wird wieder normal, die stürmischen Erscheinungen des Digestionsapparates treten zurück und es kehrt langsam Besserung des vorher so elenden subjektiven Befindens ein. Meist zeigt der Urin noch einige Zeit Eiweifsgehalt, doch ist die Nierenaffektion, als deren Symptom derselbe vorhanden ist, selten hartnäckig. Von längerer Dauer aber sind meist noch kachektisches Aussehen, anämische Zustände, Verdauungsstörungen und das Gefühl grofser Mattigkeit und Kraftlosigkeit, so dafs sich die Rekonvaleszenz sehr in die Länge zieht.

Hautaffektionen sind in 2 Fällen beschrieben, sie bilden ein Analogon zu den verschiedenen Erkrankungen der Haut, welche bei chronischen Vergiftungen mit andern Arsenpräparaten beobachtet werden, und haben nichts Typisches an sich.«

Es kann kein Zweifel sein, dafs die Zerstörung der roten Blutkörperchen viele Symptome in dem Vergiftungsbild erklären: die Nierenschmerzen, den Schwindel, die Übligkeit, Schwäche,

die Atemnot, Ohnmacht, Kopfweh, Blässe, Frost, dem Hitze folgt, kleine Herzaktion, Hämoglobinurie und Ikterus, ebenso die Anurie. Man kann sich fragen, ob ein Menschensymptom nicht ohne weiteres durch die Zerstörung der roten Blutkörperchen erklärlich ist. Am schwierigsten dürften die heftigen Schmerzen im Magen, Rücken, Gelenken so zu erklären sein, wenn wir sie nicht vielleicht auf eine schlechte Ernährung des Nervensystems beziehen dürfen.

Ich möchte jedenfalls schon hier aussprechen, dafs man sich hüten möge, das leichtest sichtbare Symptom — die Veränderung der roten Blutkörper — in zu weitgehender Weise zur Erklärung des ganzen Vergiftungsbildes heranzuziehen.

3. Bisherige Tierversuche und Plan der eigenen Tierversuche.

In der Absicht, das eigentümliche Vergiftungsbild aufzuklären, hat Eulenberg[1]) schon Versuche ausgeführt. An 6 Tieren hat er Symptome erhalten, die nicht übel zu denen stimmen, die wir eben vom Menschen beschrieben haben, namentlich trat bei mehreren der akut, meist in etwa 30 Minuten getöteten Tiere etwas Blutharn auf. Wie dies bei Orientierungsversuchen verständlich ist, hat Eulenberg mit relativ grofsen Dosen gearbeitet und sehr akute Vergiftungen und dazu noch an zarten jungen Tieren erzeugt. Besonders erwähnenswert ist aus den Protokollen seiner Sektionen, die meist unmittelbar nach dem Tode angestellt wurden, dafs er häufig Blutungen auf der Medulla oblongata, in der Schädelhöhle zwischen Arachnoidea und Pia mater, ein anderes Mal unter der Dura mater, immer aber starke Hyperämie der Hirnhäute beobachtete. In seinen Sektionsprotokollen kehrt bei der Beschreibung der Lunge das Wort grau, grauschwarz, schwarz, fortwährend wieder. Auch das Blut in den Gefäfsen wird mehrfach als schwarz, tintenschwarz bezeichnet. Frisches Ochsenblut mit Arsenwasserstoff färbte sich

1) Eulenberg, Die Lehre von den schädlichen und giftigen Gasen. Braunschweig 1865.

dunkelrot, nach Verdünnen mit drei Teilen Wasser gelang es auch, die schwarze Farbe zu erzeugen. In den Lungen scheint öfters Lungenödem gefunden zu sein, auch Blutungen sind wohl aus den Protokollen herauszulesen. An den übrigen Organen wurde aufser dem Blutgehalt des Harns nichts besonderes gefunden. Auch die Leber wird als dunkelfarbig, schwärzlichbraun, blaubraun u. s. f. beschrieben. Der Chemiker Britan, der an Arsenwasserstoffvergiftung gestorben sein soll, soll eine indigoblaue Leber gehabt haben. Leider fehlt es an jeder quantitativen Angabe über den Gehalt AsH_3 in der Luft, nur in einem Fall wird gesagt, dafs die Luft 2,47‰ Arsenwasserstoff enthalten habe, eine natürlich noch sehr starke Dosis. In einem Versuch, wo die Dosis ähnlich gewesen zu sein scheint, wurde im Blut und den Nieren Arsen nachgewiesen, im Harn wurde vergeblich danach gesucht. Sonst finden sich keine chemischen Angaben.

Die Versuche von Chevalier und Chaignot[1]) sind in der Weise vorgenommen, dafs man die Dosis suchte, welche beim Hund keine Wirkung mehr entfaltete. Die Autoren geben 0,01‰ Arsenwasserstoff als diese unschädliche Dosis an, wogegen 0,1‰ das Tier rasch gefährdete. Die zwischenliegenden Dosen erzeugten Beschwerden der Verdauung, Lähmung, Hämoglobinurie und Gelbsucht.

Die klinisch und pathologisch gleich wichtigen Tierversuche von Naunyn (Beiträge zur Lehre von Iktrus, Archiv für Anatomie und Physiologie, Jahrg. 1868 S. 401) brauche ich hier nicht weiter zu besprechen; seine Versuche sind im wesentlichen akute Vergiftungen mit unbekannten Dosen. Um leichtere Vergiftungen zu erzielen, hat er den Tieren 20, 100, ja 1000 mgr Arsenzink[2]) in den Magen verabfolgt. Über die Menge des dabei zur Verwendung gekommenen Arsenwasserstoffes ist schwer etwas Genaues zu sagen. Es fällt sehr auf, dafs eine grofse Bulldogge nach 1 gr Arsenzink, abgesehen von Albuminurin keine Ver-

1) Annales d'Hygiène, 1859. Série II, Bd. XII, S. 76. Ich zitiere diese Arbeit nach Heim, im Original war sie mir nicht zugänglich.

2) Über den Arsengehalt derselben erfährt man nichts.

änderung zeigte. Ob sie gebrochen hat, steht nicht da. In drei Versuchen wurde auch mit undosierten Dosen von AsH_3 in Mischung mit Luft gearbeitet.

Stadelmann (Arch. f. exp. Path. und Pharmac. XV. 1882) hat 17 Hunde, 7 Katzen und 8 Kaninchen mit Arsenwasserstoff vergiftet, meistens Ikterus erzielt, aber auch keine Angaben gemacht, die sich auf die quantitative Vergiftung beziehen.

Die Tierversuche von Ernst Lucas (De l'empoisonnement par l'hydrogène arsénié. Thèse de Paris 1895, bei Pouchet ausgeführt) beschäftigen sich namentlich mit der histologischen und klinischen Wirkung grofser, nur 1—8 Minuten lang wirkender, aber nicht dosierter grofser Arsenwasserstoffmengen auf grofse Hunde. Neben Hämoglobinurie und Ikterus wird namentlich auf eine Degeneration der Epithelien der Tubuli contorti Wert gelegt, die sich durch Unfärbbarkeit der Kerne dokumentiert. Er fand auch bei starker Hämoglobinurie Kristalle in der Niere, von denen er nur sagt, dafs er ihre Natur nicht aufklären konnte. Es war keine Harnsäure, weil sie keine Murexidreaktion geben und für Hämoglobin will er sie nicht halten, weil sie in Äther unlöslich waren!

Neuerdings (1908) haben nun Heim und H. A. Hébert (a. a. O.) Studien in fabrikhygienischem Interesse ausgeführt, in denen sie aufs neue die Giftigkeitsgrenze des AsH_3 bestimmt haben. Diese Arbeit war mir, als ich meine Versuche begann, nicht bekannt und wurde erst einige Zeit später bei den Literaturstudien gefunden. Die Arbeit bedient sich einer sehr einfachen Methodik. Die Autoren bringen in ein kleines Kölbchen etwas konzentrierte Schwefelsäure und stellen in dieselbe ein unten geschlossenes Röhrchen mit einer abgewogenen Menge von Arsenzink, das 9,8% Arsen enthält. Unter einer Glasglocke von 10 l, die auf einer geschliffenen Glasplatte steht, wird das Versuchsmeerschweinchen (selten wurde ein Sperling verwendet) untergebracht, die Glocke oben mit einem doppelt durchbohrten Kork verschlossen, durch den ein langes und ein kurzes Glasrohr gehen. Das lange Rohr wurde mit dem Kölbchen verbunden, in dem die Schwefelsäure und das Arsenpräparat bereitstehen.

Man neigt nun das Arsenkölbchen, so dafs Schwefelsäure und Arsenzink aufeinander wirken können, erwärmt es ein wenig mit einer Spiritusflamme und nimmt an, dafs genügende Mischung von Arsenwasserstoff und Luft in dem Kolben stattfindet. In der Zeichnung trägt das Arsenkölbchen noch ein zweites in die Schwefelsäure tauchendes Glasrohr, als ob beabsichtigt wäre, mittels des kurzen Glasrohres der Tierglocke Luft durch den AsH_3 zu saugen, resp. den letzteren in die Glocke einzusaugen. Die Beschreibung sagt aber von einer derartigen Luftmischung nichts. Die Versuche sind in bescheidener Zahl vorgenommen, sie lassen sich in folgende kleine Tabellen zusammenfassen, die Zahlen sind in Volumpromille angegeben.

A. Versuche an Meerschweinchen.

I. Einmalige Wirkungen.

5,20	pro mille	AsH_3	wirken	15	Min. . .	tot.
3,45	» »	»	»	30	» . .	tot.
1,73	» »	»	»	30	» . .	überlebt (ob das Tier geschädigt wird, ist nicht gesagt).
0,86	» »	»	»	15	» . .	tot nach 6 Stunden.

II. Versuche mit mehrmaliger Einwirkung (dazwischen je 24 Stunden Pause).

0.17	pro mille	AsH_3	wirken	dreimal	je	15	Min.	tot 15 Stunden nach der letzten Einatmung.
0,086	» »	»	»	»	»	15	»	tot einige Stunden nach der letzten Einatmung.
0,042	» »	»	»	achtmal	»	15	»	Erholung 3 Tage nach der letzten Einatmung.
0,021	» »	»	»	»	»	15	»	keine Symptome.

B. Versuche am Sperling.

0,086	pro mille	AsH_3	wirken	einmal	15	Min. .	tot nach $^1/_2$ Stunde.
0,042	» »	»	»	»	15	» .	tot nach 10 Stunden.
0,021	» »	»	»	zweimal	15	» .	tot 1 Stunde nach dem zweiten Versuch.

Hieraus schliefsen die Autoren, dafs für das Meerschweinchen 3,5 ‰ ausreichen, um es rasch zu töten, und dafs 0,05 ‰ bei wiederholter Applikation zur Tötung ausreicht. Der Sperling hat sich noch als wesentlich empfindlicher erwiesen. Vorsichtiger

weise setzen Heim und Hébert die Dosis von AsH_3, die sie noch in der Luft von Fabriken zulassen, nicht auf 0,02 ‰, was das Meerschweinchen noch mehrfach kurze Zeit reaktionslos verträgt, sondern auf 0,005 ‰ pro mille an, also auf ein Viertel der obigen Dosis.

Man wird kaum den Standpunkt vertreten, dafs durch diese Untersuchungen die Frage genügend geklärt gewesen sei und dafs neue Versuche überflüssig erschienen, ich glaubte denn auch aus folgenden Gründen meine begonnene Arbeit ruhig fortsetzen zu sollen:

1. Ist in den Versuchen Heims die Wirkung des Giftes nur in einem abgeschlossenen Luftraum, in dem die Luft nicht gewechselt wurde, untersucht worden.
2. War die Dosierung des giftigen Gases eine eigenartige, indem nicht der Gehalt an Arsenwasserstoff in der Luft des Versuchsraumes bestimmt wurde, sondern angenommen wurde, dafs die theoretisch zu erwartende Menge sich entwickle und sich gleichmäfsig im Raum verteile, eine Voraussetzung, die mindestens einmal zu beweisen war, und kaum ganz scharf zutrifft.
3. Sind die Versuche noch nicht mit den allerkleinsten Dosen und nur an Meerschweinchen und Vögeln ausgeführt, Tieren, die sich wenig eignen, mit dem Menschen verglichen zu werden.
4. Endlich sind die Versuche der französischen Autoren nie länger als 8mal $^1/_4$ Stunde ausgeführt worden, was die Verhältnisse in den Fabriken doch nur recht einseitig nachahmt.

Meine neuen Versuche mufsten an einem dem Menschen möglichst ähnlichen Versuchstier vorgenommen werden, als welches sich in erster Linie die Katze empfahl, wenigstens ist nach den Erfahrungen von Herrn Prof. Lehmann die Katze den meisten Giften gegenüber ähnlich empfindlich wie der Mensch. Man durfte auch an Katzen erwarten, Hämoglobinurie leicht zu beobachten, da diese Tiere sehr leicht zerstörbare rote Blutkörperchen haben. Man konnte bei der Wahl dieser Tiere

mit einem kleinen, ganz aus Glas hergestellten Apparat arbeiten, was bei der Verwendung von Hunden schon etwas gröfsere Schwierigkeiten gemacht hätte. Ich habe deswegen meine Versuche anfangs ganz an dieser Tierart angestellt. Später sind auch Kaninchen verwendet. Im ganzen sind 32 Tierversuche an 18 Tieren angestellt. Selbstverständlich machte ich es mir zur Aufgabe, nicht nur die chemische Seite der Frage soweit als möglich selbst zu studieren, sondern auch die Symptomatologie und die pathologische Anatomie der Vergiftung, soweit es in meinen Kräften stand, zu verfolgen. In diesen beiden Richtungen gibt die Mitteilung von Heim und Hébert gar nichts. Endlich habe ich die Giftabsorption quantitativ verfolgt und etwas über den Verbleib des Arsens im vergifteten Tier zu ermitteln gesucht.

Es war selbstverständlich, dafs ich mir bei den Versuchen der hohen Giftigkeit des AsH_3 bewufst war. Die Versuche wurden in einem besonderen, sonst von niemand betretenen Raum vorgenommen und alle Arsenwasserstoffdarstellungen unter einem gutziehenden Abzug. Auch wurde stets mit besonderer Ruhe und Sorgfalt gearbeitet. Die Tierversuche konnten natürlich, da der Apparat ziemlich umfangreich war, nicht unter dem Abzug ausgeführt werden, immerhin gelang es mir durch die obenbeschriebenen Vorsichtsmafsregeln, den AsH_3 so vollständig von der Zimmerluft fernzuhalten, dafs ich nicht ein einziges Mal Gelegenheit hatte, auch nur den Geruch des Gases kennen zu lernen, und dafs ich einige besondere, natürlich äufserst vorsichtige Versuche zu diesem Zwecke anstellen mufste.

4. Herstellung und quantitative Bestimmung des Arsenwasserstoffs.

Die erste Aufgabe mufste sein, AsH_3 von bestimmter Konzentration zu erhalten, um ihn auf die Tiere wirken zu lassen. In den Büchern wird empfohlen, AsH_3 aus Arsenzink zu entwickeln, das man aus Zusammenschmelzen von Zink und Arsen erhalten soll. Ich war im Anfang der Meinung, es könnte gelingen, ein reines Arsenzink herzustellen, mit dem man einen

100 proz. Arsenwasserstoff erzeugen könnte. Sehr bald überzeugte ich mich, daſs es eines groſsen Zeitaufwandes bedurft hätte, um diese Aufgabe zu lösen, deren Lösung für meine Zwecke überflüssig war. Es genügt, einen Wasserstoff zu besitzen, der einen bestimmten Prozentsatz Arsenwasserstoff enthält. Diese Aufgabe war leicht gelöst. Beim Zusammenschmelzen von schichtweise übereinander angeordneten Lagen von Arsen und Zink, das Arsen in fein gepulvertem, das Zink in geraspeltem Zustand, erhält man, wenn man als unterste Schicht Arsen und als oberste Zink nimmt, ein graues, poröses, leicht zerreibbares metallähnliches Reaktionsprodukt, das mit dreifach verdünnter Salzsäure versetzt, reichliche Mengen Gas entwickelt. Ich stellte mir gewöhnlich 3—500 ccm Gas dar mit Hilfe des abgebildeten Apparates (S. 14). Der Gehalt desselben betrug bei der Analyse meist zwischen 16 und 30% AsH_3.[1])

Zur Analyse des AsH_3 verwendete ich nacheinander verschiedene Methoden, die in der sorgfältigen Studie von Hans Reckleben und Georg Lockemann[2]) empfohlen sind und zwar arbeitete ich bei der Analyse des Wasserstoffgemisches immer volumetrisch.

1. Zunächst wurde mit salpetersaurem Silber gearbeitet in neutraler 3 proz. Lösung (ohne Zusatz von Ammoniak), sodann
2. mit jodsaurem Kali in gesättigter Lösung unter Zusatz von einigen Tropfen 10 proz. Schwefelsäure,
3. wurde auch mit einer gesättigten, frisch bereiteten Chlorkalklösung gearbeitet.

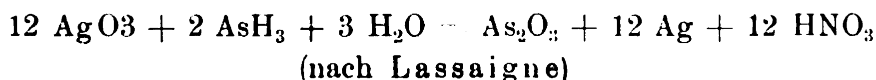
Das Gas wurde in üblicher Weise in die Hempelsche Gaspipette hinübergetrieben, geschüttelt, in die Meſspipette übergetrieben und das Volumen reduziert. Ich hatte die groſse Freude, mit den drei Methoden an der gleichen Mischung jedesmal so ähnliche Resultate zu finden, daſs die Differenzen in die

1) Um Zeit zu sparen, versuchte ich auch die Herstellung von AsH_3 durch Zink, Arsenige, Säure und Salzsäure — ich erhielt so einen Wasserstoff mit nur 1—2% AsH_3, für meine Bedürfnisse zu wenig.

2) Zeitschr. f. Angew. Chemie, 1896, Heft 7, S. 275.

Fehlerquellen fallen. Aufserdem kontrollierte ich die Vollständigkeit der Absorption durch Silbernitrat damit, dafs ich den Gasrückstand aus der Silberpipette in eine Jodsäurepipette übertrieb. Der Inhalt verfärbte sich nicht. Ebensowenig gab der Gasrest, der in einer Jodsäurepipette geblieben war, beim Übertreiben in eine mit frischer Silberlösung gefüllte, eine schwarze Färbung, doch war eine leichte Gelbfärbung durch Bildung von Jodsilber infolge der im übriggebliebenen Gase enthaltenen Joddampfspuren nicht zu vermeiden.

Die Reaktionen, die bei diesen Bestimmungen in Frage kommen, sind die folgenden:



$$12\ AgO3 + 2\ AsH_3 + 3\ H_2O = As_2O_3 + 12\ Ag + 12\ HNO_3$$

(nach Lassaigne)



$$8\ H\ JO_3 + 5 AsH_3 = 5\ AsO_4\ H_3 + 8\ J + 4\ H_2O.$$

Für die Reaktion mit Chlorkalk habe ich nirgends eine genauere Gleichung gefunden.

Als Beleganalysis für die Übereinstimmung der Methoden will ich folgende Zahlen anführen, die ich leicht verzehnfachen könnte.

Gasmischung I (2. März 1909):

Gefunden mit $AgNO_3$ 16,0%, mit KJO_3 16,0%

" " Ca $(ClO)_2$ 15,8—16,0%

Gasmischung II (25. Juni 1909):

Gefunden mit $AgNO_3$ 26,4%

" " KJO_3 26,4%.

5. Methodik meiner Tierversuche.

Für meine Tierversuche, zu deren Schilderung ich jetzt übergehe, bediente ich mich einer Versuchsanordnung, die kombiniert ist aus einer Anordnung, die Herr Prof. Lehmann für die nitrosen Gase ausgearbeitet hat, und der Einrichtungen, mit denen Yokote vor einigen Jahren im Hygienischen Institut in Würzburg mit Phosphorwasserstoff gearbeitet hat. (Arch. f. Hygiene Bd. XLIX.) Der Apparat ist leicht verständlich an Hand der beiliegenden Zeichnung.

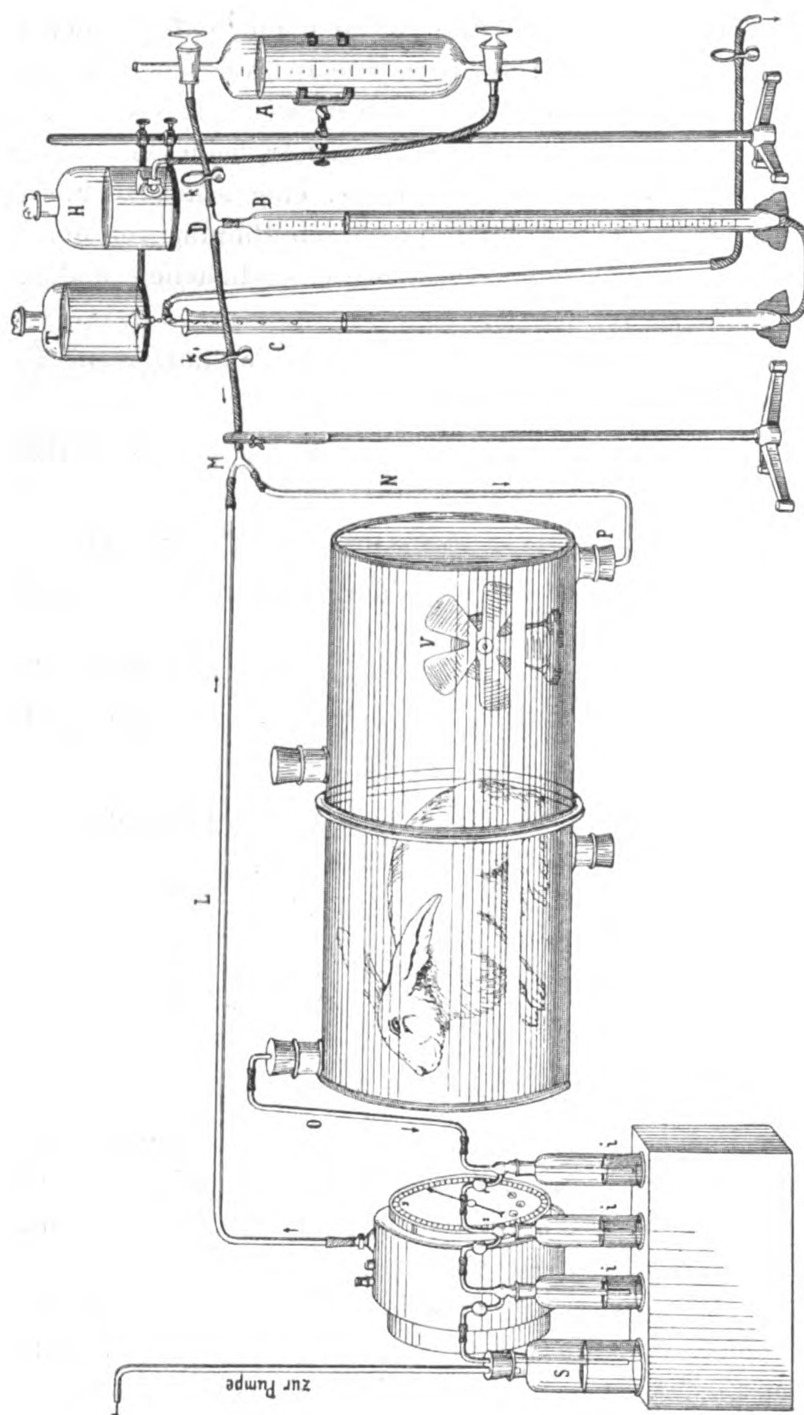


Fig. 1.

In dem Gefäſse A wurde eine abgemessene Menge vorher untersuchten, verdünnten (ca. 20%) Arsenwasserstoffes mit reinem Wasserstoff gemischt und dadurch auf die Konzentration von 0,5—1,5% gebracht. Durch das Gefäſs H lieſs sich die Bürette B mit 100 ccm dieses Gemisches füllen. Hierauf wurde der Quetschhahn K geschlossen. Aus der Flasche T tropft konzentrierte Kochsalzlösung, die den Arsenwasserstoff kaum absorbiert, in den offenen Schenkel C der Gasbürette und verdrängt in der Zeiteinheit nach Wegnahme des Hahnes K_1 die gewünschte Menge des Wasserstoff-Arsenwasserstoffgemischs durch den Stopfen P in den Glasbehälter, der das Tier aufnimmt. In der Regel wurden etwa 100 ccm des Gasgemisches in einer halben Stunde dem Tier zugeleitet. Während auf diesem Wege unter schwachem Druck Giftluft dem Tiere zugeführt wird, saugt eine Saugpumpe durch das Glasrohr O einen Frischluftstrom durch den Kasten, ca. 60 l pro Stunde. Die Frischluft strömt durch die Uhr und das Rohr L zu, bei M findet ihre Vermischung mit der Giftluft statt. Man darf annehmen, daſs die Mischung von Arsenwasserstoff und Luft auf diese Weise eine vollkommene sein wird. Es ist noch zu erwähnen, daſs ich natürlich nicht die arsenwasserstoffhaltige Luft in das Zimmer aus dem Kasten absaugen durfte, sondern daſs ich sie vorher durch drei hintereinander geschaltete Flaschen mit Jodlösung und eine mit Natrium Thiosulfat vom Arsenwasserstoff befreite. Das Glasgefäſs, das dem Tiere zum Aufenthalt diente, bestand aus zwei liegenden, am einen Ende geschlossenen, am anderen Ende offenen und abgeschliffenen Glaszylindern, die durch eine einfache Vorrichtung aufeinander gepreſst wurden. (Inhalt zusammen 25 l). Die letztere ist auf der Abbildung nicht gezeichnet. Das Bild zeigt im Glaskasten noch einen Ventilator, welcher in der zweiten Reihe der Versuche gebraucht wurde. Er stand natürlich nicht so, wie er der Einfachheit wegen gezeichnet wurde, sondern parallel dem Boden der Zylinder. Da sich herausstellte, daſs die Versuche, bei denen die Luft mit diesem Ventilator gemischt wurde, genau die gleichen Resultate ergaben wie die ohne Luft-

mischung, so habe ich sie nicht besonders, sondern unter den anderen angeführt.

Der Heber, welcher in die Glasröhre *C* eintaucht, dient nur zum Entleeren des Rohres, wenn im Laufe eines Versuches sich eine zweite, dritte usf. Füllung des Schenkels *B* notwendig macht.

6. Resultate meiner Tierversuche und Diskussion des Wesens der Arsenwasserstoffvergiftung.

Die ausführlichen Protokolle meiner Versuche drucke ich nicht ab, sondern nur einen kurzen Auszug in Tabelle I. Die stärksten Dosen, die ich anwendete, waren 0,05 ‰, meist wurde nur mit 0,025—0,01 ‰ gearbeitet. Die Expositionsdauer betrug meist 3—5 Std. — längere Versuche waren bei der peinlichen Genauigkeit, die ich mir zur Pflicht machte, nur sehr schwer durchführbar. Die schwachen Dosen habe ich meist an mehreren aufeinander folgenden Tagen oder auch mit Einschiebung von Erholungstagen, wenn dies nötig schien, wirken lassen.

Tabelle

Nummer des Tieres	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm AsH_3	Konzentration des AsH_3 Volum p. mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
1	2040	108	5,75	0,053	1,75	30 III.	Erste 20 Minuten ruhige Lage, 33 bis 38 Respiration, scheint am Ende dieser Zeit zu schlummern; nach 25 Minuten Respiration 37, leichte Bewegung, dann wieder Ruhe. Nach 1 Stunde reichlich flüssige Kotentleerung von schwärzlicher Farbe, bis zum Schlufs des Versuchs nichts Neues. Die Katze scheint anfangs etwas gestört zu sein, versucht dann sich zu säubern, dann wieder Ruhe, Respiration 32.

Die beschriebenen Versuche gestatten, etwa folgende Vorstellung über die Wirkung des AsH_3 auszusprechen:

Zunächst ist klar, dafs dem AsH_3 eine stark hämolytische Wirkung zukommt. Sowie die Konzentration der Atemluft etwa bis zu 0,03 pro mille beträgt, genügt ein Aufenthalt von wenigen — etwa 3 — Stunden, um alsbald Hämoglobin, resp. Oxyhämoglobin im Harn auftreten zu lassen, als sicheres Zeichen, dafs eine Auflösung von roten Blutkörperchen in der Blutbahn stattgefunden hat. Stadelmann hat wie ich im Harn neben gelöstem Oxyhämoglobin auch Methämoglobin in geringen Mengen gefunden. Es ist nicht unwahrscheinlich, dafs es erst in der Blase entsteht. Ein Vorkommen einzelner roter ungelöster Blutkörperchen im Harn, wie dies Stadelmann (a. a. O.) mehrfach erwähnt, habe ich nicht mit absoluter Sicherheit gesehen, es war nur Detritus zu finden. Dagegen war es, wie in den Protokollen angegeben, leicht, im Blut Schatten und Detritus der Erythrozyten zu finden.

Ich habe natürlich auch versucht, durch mikroskopische Untersuchung von Herz, Leber und Niere etwas über den Zustand

I.

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Einige Stunden nach dem Versuch scheint das Tier normal, putzt sich, die Pupillen sind als weit notiert. Nach 12 Stunden wird das Tier tot gefunden in Leichenstarre.	Etwas mageres Tier von mäfsigem Ernährungszustand. Lungen blafs, Trachea enthält viel Schleim und massenhaft Wurmembryonen, in der Pleura nichts Besonderes, Herz erweitert, im Pericard 20 ccm hämorragisches Exsudat. In den Vorhöfen des Herzens festgeronnenes Blut, ebenso in den grofsen Venen. Leber nicht auffallend derb, etwas gelblich, mikroskopisch zeigt sie eine Verfettung mittleren Grades. Nieren dunkelrot von ungefähr normaler Gröfse, frische Schnitte scheinen Blutzylinder zu enthalten. Milz nicht auffällig, in der Pleurahöhle kein Exsudat, Magen stark mit Stroh gefüllt. Nichts über den Blutgehalt des Harns zu sagen, Blut kirschlackfarbig, die mikroskopische Untersuchung des Blutes ist nicht sicher durchgeführt.

Fortsetzung der

Nummer des Tieres	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm AsH_3	Konzentration des AsH_3 Volum p. mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
2	2450	130	6,72	0,052	2	1. IV.	Während der ganzen Versuchszeit bietet das Tier absolut keine erwähnenswerten Symptome; die Respiration ist bei Beginn 26—28 und sinkt ganz langsam auf 20—24; das Tier schläft zeitweise, zeigt keine Andeutung von Schmerzen, Aufregung o. dgl.
3	1980	180	5,56	0,030	3	13. V.	Das Tier atmet regelmäfsig, 22—24 Respiration, zeitweise Halbschlummer, kein Erbrechen etc.
4	1900	100	2,5	0,025	2	27. IV.	An dem Tier wird nichts Auffallendes beobachtet, Respiration 28, leichte Unruhe abwechselnd mit Schlummer.

Tabelle I.

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Unmittelbar nach dem Abstellen des giftigen Gases erbricht das Tier reichlich zweimal binnen $^1/_4$ Stunde, das Tier wird die folgenden 4 Stunden beobachtet, scheint matt, nimmt keine Nahrung, Respiration 36—40, nach 4 Stunden werden 15 ccm bluthaltigen Harns gesammelt, 12 Stdn. später ist das Tier tot.	Gut genährtes Tier. Muskeln blafs, in allen Venen fest geronnenes Blut, Herz normal, Pericard ebenso. Vorhöfe mit reichlichen Mengen fest geronnenen Blutes gefüllt, überhaupt ist es schwer, irgendwo bei dem Tier flüssiges Blut zu finden. Lunge gut kollabiert, etwas ödematös, leichter Trachealkatarrh, etwas hämorragisches Exsudat in der Pleurahöhle. Leber makroskopisch normal, mikroskopisch etwas vermehrter Fettgehalt. Gallenblase stark gefüllt, Milz blafs, Nieren nicht besonders grofs, dunkelviolettrot. Die Kapillaren der Niere gewaltig mit geronnenem Blute injiziert, ebenso die Glomerulie. Harnblase leer, der Schleim gut injiziert. Der am Tag vorher gelassene Harn zeigt mikroskopisch viele zerfallene rote Blutkörperchen, einzelne hyaline Zylinder, einzelne Fettröpfchen, keine Blutkörperzylinder. Magen unauffällig, Därme etwas injiziert, rosafarbig.
Tier etwas matt, trinkt aber noch Milch, schläft die folgenden 40 Stunden grofsenteils in zusammengerollter Stellung. Harn wurde keiner beobachtet. Der Tod tritt scheinbar ohne besondere Symptome unerwartet in meiner Abwesenheit ein.	Tier von normalem Ernährungszustand; ganz frisch seziert, ca. 1—2 Stunden nach dem Tode. Venen mit geronnenem Blute gefüllt, auch die der Därme, was vielleicht bei den früheren Sektionen als Injektion gedeutet wurde. Vorhöfe des Herzens mit festen Blutgerinnseln erfüllt, Herzfüllung vielleicht etwas blafs. Im Pericard kein Exsudat. Lungen nicht ganz vollkommen kollabiert, einige Stellen erscheinen ödematös. Leber etwas gelblich, ziemlich blutreich, Gewicht 65 g. Nieren violettrot, blutreich, etwas grofs. Harnblase mit 50 ccm tiefdunklem, braunrotem Harn gefüllt, unter dem Mikroskop zeigt er viele zersetzte Blutkörperchen, auch ziemlich viele unzersetzte. Der Harn gibt neben dem Oxyhämoglobinstreifen auch einen breiten Methämoglobinstreifen in Rot. Seine braunrote Farbe wird auf Cyankaliumzusatz intensiv rot.
Das Tier stirbt 9 Tage nach dem einmaligen Versuch. In den ersten Tagen ist es etwas traurig, später frifst es, es wurde mehrmals Harn von dem Tiere gesammelt. Derselbe enthielt kein Hämoglobin, Spuren von Eiweifs, mikroskopisch nichts Besonderes.	Sektion ca. 18 Stunden nach dem Tode gibt wenig Auffallendes. Blut nicht geronnen, Lungen kollabiert, blafs, etwas Emphysem, und einige kleine Infiltrationsherdchen, bei deren Durchschneidung etwas Eiter bemerkt wird. Leber, Nieren, Blase ohne pathologischen Befund. Uterus enthält drei Embryonen, keine anatomisch sichere Todesursache.

Fortsetzung der

Nummer des Tieres u. des Versuchs	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm AsH_3	Konzentration des AsH_3 Volum p mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
5. I.	2110	180	4,5	0,025	3	21. V.	Während des Versuchs keine auffallenden Symptome, Respir. zwischen 14 und 16, ruhig, dann und wann etwas schlummernd.
II.	1850	—	—	—	—	26. V.	do.
III.	1770	—	—	—	—	27. V.	do.
6. I.	1950	180	3,24	0,018	3	10. V.	Respiration zwischen 25 und 30.
II.	1680	205	4,48	0,021	3	14. V.	Im zweiten Versuch nichts Auffälliges, Respiration 21 — 22, ganz ruhig, am Schlufs Harnentleerung, Harn gelb, konzentriert, enthält Spuren Eiweifs. Aufserdem Entleerung von flüssigem Kot.

Tabelle I.

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Die 3 Tage nach dem ersten Versuch ist das Tier ruhig, matt, appetitlos, kein Blut im Harn zu finden. Nach dem zweiten Versuch frifst es nichts. 14—16 Stunden, nach dem dritten Versuch tot am folgenden Tag.	Die Katze ist in den 6 Tagen, seit sie im Versuch steht, von 2110 g auf 1770 g abgemagert. Das ursprünglich frische, gut genährte Tier erscheint bei der Sektion, die ganz frisch an dem noch etwas warmen Kadaver vorgenommen wird, sehr blafs, aber nicht sehr mager, Fett deutlich gelb, Venen mäfsig mit geronnenem Blut und Serum gefüllt, Herzmuskel etwas blafs, im Pericard kein Exsudat, in den Vorhöfen grofse Fibrinklumpen. Lungen kollabiert, am Rande etwas emphysematös. Leber etwas gelblich, 50 g schwer, nicht besonders blutreich. Gallenblase sehr voll, abgeschabter Lebersaft zeigt Leberzellen mit mäfsigen Mengen von Fett und eine kleine Anzahl von Kristallen von rötlicher Färbung; da auf Ätherzusatz die gleichen Kristalle in gröfseren Mengen auftreten, werden sie mit grofser Wahrscheinlichkeit als Hämoglobinkristalle erklärt. Einzelne Cholestearinkristalle. Nieren nicht deutlich vergröfsert, sehr fettreich, die Marksubstanz auffallend gelb gefärbt, die gelbe Farbe rührt, wie die mikroskopische Untersuchung ergibt, von der Anwesenheit reichlicher Bilirubindrusen her. Die Harnkanälchen scheinen Blutzylinder zu enthalten. Harnblase gefüllt, enthält bluthaltigen Harn, auch einzelne rote Blutkörperchen (?). Kein Sediment, keine Blutkörperzylinder, aber Spermatozoen- und Fettröpfchen. Spektroskopisch ist nur Oxyhämoglobin zu erkennen. Milz normal, Magen ganz leer, kollabiert und von gelbblasser Farbe. Bemerkung: Der Tod ist jedenfalls auf die subchronische Arsenwasserstoffvergiftung zurückzuführen.
Nach dem ersten Versuch nichts Besonderes; Appetit erhalten. Nach dem zweiten Versuch Appetit vermindert, frifst aber noch etwas.	Das Tier hat in der Versuchszeit von 19 Tagen von 1950 g auf 1380 g abgenommen. Bei der Sektion schlecht genährt, blafs. Venen mit geronnenem Blut und Serum. Vorhöfe mit mäfsigen Blutklumpen gefüllt. Lungen gut collabiert, kein Emphysem, Blut scheint unverändert. Leber von normaler Farbe, blutreich, 85 g schwer, mikroskopisch nichts Auffallendes, namentlich kein besonderer Fettgehalt der Leberzellen. Nieren etwas fetthaltig, nicht auffallend verändert. Harnblase

Fortsetzung der

Nummer des Tieres und des Versuchs	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm AsH_3	Konzentration des AsH_3 Volum p. mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
III.	1575	185	3,75	0,020	3	17. V.	Im dritten Versuch ist nur zu bemerken, daſs die Respiration gegen Ende auf 36 stieg.
IV.	1550	180	4,00	0,022	3	18. V.	Im vierten Versuch nichts Besonderes; Respiration steigt gegen Ende des Versuchs auf 42.
V.	1380	180	4,50	0,025	3	25. V.	Im fünften Versuch nichts Besonderes; schlummert viel, Respiration steigt von 20 auf 36. Urin ohne Eiweiſs und Blut, Spur Gallenfarbstoffe (?).
7. I.	3930	310	3,00	0,010	4,45	30. IV.	Keine Symptome, ruhig, Respiration 24 und 28.
II.	4265	245	4,25	0,018	3,5	7. V.	do.

dieser Organe bei den gestorbenen Tieren zu erfahren. Besonders sorgfältig wurden zwei Fälle untersucht.

Nieren der Katze Nr. 3, die nach einmaliger dreistündiger Einatmung von Arsenwasserstoff (0,03 ‰) binnen 40 Stunden zugrunde gegangen ist. Das Epithel der Tubuli contorti zeigt starke Lücken und schaumige Struktur, was unzweifelhaft auf einen Fettgehalt im Leben zu beziehen ist. Die Kerne sind meist gut gefärbt, doch kommen auch Stellen vor, in denen die Kernfärbung in den schaumigen Zellen herabgesetzt ist. Das Kontortusepithel dringt in vielen Fällen in dicken klumpigen Massen in den Raum der Bowmanschen Kapsel ein. Dieser Befund, der mir zuerst als sehr pathologisch imponierte, ist nach der Versicherung von Herrn Professor Dr. Lehmann bei so vielen

Tabelle I.

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Appetit gering, Nahrungsaufnahme wahrscheinlich sehr gering. Nach dem vierten Versuch wird wieder einmal Fleischaufnahme beobachtet. Nach dem fünften Versuch frifst das Tier nichts mehr und stirbt 24 Stunden später.	leer, enthält einen erbsengrofsen Klumpen, der aus morphologisch gut erhaltenen Blutkörperchen besteht. Weder mit Wasser noch mit Natronlauge noch mit Säure läfst sich ein gefärbter Auszug erzielen, auch Häminprobe gelingt nicht. Der Blutfarbstoff ist also schon stark verändert. In der Asche wird etwas Eisen nachgewiesen. Magen gebläht, enthält etwas Stroh.
Nach beiden Versuchen keine Störung des Befindens, ganz gesund; es ist zu bemerken, dafs dies ein ganz besonders kräftiges männliches Tier war.	

Katzen, die man als gesund kauft, vorhanden, dafs gar kein Grund vorliegt, diese Veränderung auf den Arsenwasserstoff zu beziehen. Auch in den Tubuli recti zeigt sich, wie häufig bei Katzen, mehr oder weniger starke Verfettung: Die Blutgefäfse sind mit meist nicht besonders gut erhaltenen Blutkörperchen gefüllt, die feinen Gefäfse der Markschicht sind meist sehr blutleer. In den Henleschen Schleifen, sowohl in den aufsteigenden wie absteigenden Schenkeln, liegen gelbrote, rundliche, auf den ersten Blick als Blutkörper imponierende Schollen. Bei näherer Betrachtung erkennt man, dafs die einzelnen kugeligen Schollen von sehr verschiedener Gröfse sind, dafs sie dann und wann zu einem homogenen Klumpen zusammengeballt sind, der das ganze Lumen erfüllt, und dafs nirgends in den Blutgefäfsen

analoge Gebilde vorkommen. Der Befund spricht deutlich dafür, daſs blutfarbstoffhaltiger Harn durch die Glomeruli oder Tubuli contorti ausgeschieden wird, aus dem sich in den Tubuli recti (durch Eindickung?) hämoglobinhaltige Klumpen abscheiden. Nirgends liegen deutliche Blutkörper in einem Harnkanälchen, nirgends enthält eine Bowmansche Kapsel Hämoglobin. Dagegen finden sich an vielen Stellen im interstitiellen Gewebe netzartig die Harnkanälchen umgebende gelbbraune glänzende homogene Massen. Dieselben werden am einfachsten gedeutet als Blutfarbstoff, der aus den Gefäſsen ausgetreten ist und im interstitiellen Bindegewebe liegen geblieben ist. Jedenfalls kann ich versichern, daſs es uns nie gelungen ist, im interstitiellen Gewebe einen Erythrozyten oder Leukozyten zu finden, daſs also die zunächst liegende Deutung dieser mit Blutfarbstoff gefüllten Maschenräume als »Blutung« kaum zutreffen dürfte.

Der ganze Befund stimmt sehr gut mit der Darstellung, die Dürck (Atlas u. Grundriſs der spez. path. Histologie, München 1901, S. 68) vom Hämoglobininfarkt gibt.

Bindegewebeveränderungen waren an der Niere nur ganz untergeordnete zu sehen, wie sie sich nach der Versicherung von Herrn Professor Dr. Lehmann ohnehin bei Katzen sehr häufig finden.

Die Niere von Katze 5 (dreimal in 9 Tagen je 3 Std. bei 0,025, Tod 16 Std. nach dem dritten Versuche) bietet an den Tubuli contorti ganz das gleiche Bild wie Katze 6; in den Henleschen Schleifen findet sich auch etwas Blutfarbstoff da und dort, aber die einzelnen Klümpchen sind kleiner und sie sind nicht zu so groſsen Massen vereinigt wie bei Katze 6. Nur da und dort sind auch hier wieder groſse »Pseudoblutkörper« von leuchtend orangegelber Farbe im Hämatoxylin-Eosinpräparat in gröſserer Anhäufung in den Schleifen zu sehen. Bindegewebsveränderungen und Blutfarbstoffaustritte in die interstitiellen Räume fehlen.

Aus diesen Befunden ist auch zu entnehmen, daſs sich die oft beobachtete Anurie durch Verstopfung von Harnkanälchen zum Teil erklären kann.

Ebenso ist es sicher berechtigt, die Schwäche, Mattigkeit und vermehrte Respiration des Tieres mit der Auflösung von roten Blutkörperchen in Beziehung zu bringen. Sicher hängt mit dem vermehrten Untergang von roten Blutkörperchen die gesteigerte Gallenbildung und die Ausscheidung von Bilirubinkristallen in der Niere (Fall 5, S. 21) zusammen. Ausgesprochenen Ikterus habe ich allerdings nur in einem Falle beobachtet. (Fall 8, S. 31.)

Ich würde es aber, wie oben angedeutet, für falsch halten, wenn man glaubte, in der Hämolyse die einzige und gleichzeitig die ausreichende Erklärung für die an den AsH_3-Tieren beobachteten Störungen zu finden. Die Hämolyse hat in keinem Fall meiner Versuche einen besonders hohen Grad erreicht. Es gibt sehr viele Krankheiten, bei denen erhebliche Mengen von roten Blutkörpern zugrunde gehen — ohne auffallende Schädigung des Organismus. Ich erinnere an die paroxysmale Hämoglobinurie, eine weitverbreitete Krankheit, an der sonst gesunde Menschen leiden und die darin besteht, dafs dieselben bei Abkühlungen, Überanstrengungen usf. blutroten Harn bekommen und sich dabei mehr oder weniger angegriffen fühlen, ohne aber schwer krank zu sein.

Anderseits sind mir Tiere gestorben, welche kaum Hämoglobin im Harn zeigten. (Tier Nr. 6 und auch wohl Nr. 4.)

Nach unserer Überzeugung ist die Menge des bei schwerer Vergiftung notwendigen Arsenwasserstoffes so aufserordentlich klein, dafs auch alle Spekulationen darüber, dafs vielleicht eine Oxydation von Arsenwasserstoff zu Arsenigersäure unter Veränderung der Alkaleszenz an der Vergiftung beteiligt sein könne, nichtig sind; denn solche Spuren, wie sie zur Tötung genügen, können auf die Blutalkaleszenz keinen Einflufs haben, ändert sich doch die Blutalkaleszenz nicht merklich, wenn die Tiere Säuredämpfe einatmen (Salzsäure, Essigsäure).

Interessant scheint mir, dafs die Symptome, die Yokote (a. a. O.) bei Phosphorwasserstoffvergiftung erhalten hat, wenn ich von der Hämolyse absehe, in manchen Punkten sehr ähnlich den von mir beobachteten sind. Die Tiere waren bei den Konzentrationen

von etwa 0,1—0,05 müde, angegriffen, entleerten Harn und Kot, zeigten Appetitlosigkeit und eine Atemnot, die manchmal zu extremen Atemfrequenzen bis zu 175 führte, in der Regel aber nur eine Respiration bis zu etwa 34 in der Minute auslöste. Pathologisch-anatomische Befunde waren wenig vorhanden bei den akuten Todesfällen, aufser etwas Lungenhypostase und etwas Ödem. Noch gröfser war die Ähnlichkeit in der Wirkung der kleinen Dosen von etwa 0,025‰ an. Bei diesen Dosen zeigten die Tiere aufser Appetitlosigkeit und Mattigkeit wenig pathologische Symptome. Andeutung von leichten Krämpfen, die dann und wann notiert sind, sind mir allerdings, ebenso wie andere nervöse Symptome, beim AsH_3 niemals begegnet. Jedenfalls besteht zwischen den Vergiftungen mit minimalen Dosen AsH_3 und Phosphorwasserstoff weitgehende Ähnlichkeit, wir dürfen sagen, dafs wir über die wahre Todesursache in beiden Fällen nichts Bestimmtes aussagen können. Es scheint müfsig, sich heute in Hypothesen darüber zu ergehen, wo diese unheimlichen Gase im Organismus eingreifen, ob irgendwelche Fermentwirkungen gestört werden usf. Bisher fehlt es an Anhaltspunkten zur Anknüpfung von ganz bestimmten Vermutungen. Immerhin betrachte ich diese Erkenntnis als einen Fortschritt gegenüber der Meinung der Autoren, die alle Arsenwasserstoffwirkung durch Hämolyse erklären.

7. Weitere Tierversuche mit spezieller Berücksichtigung der Absorption des AsH_3 durch das Tier.

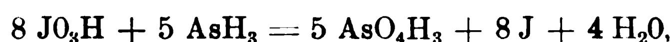
Eine besonders interessante Frage, die mit unserer Versuchsmethodik leicht zu lösen schien, war, wieviel Gift denn ein Tier aus der Giftluft während der Versuchsdauer aufnehme. Die Frage schien sich leicht durch folgende Versuchsanordnung zu lösen: Man liefs einmal durch den leeren Glaskasten eine genau bestimmte Menge AsH_3 gehen und bestimmte diese Menge in den Absorptionsgefäfsen wieder, welche zwischen Kasten und Saugpumpe angebracht waren. Hierauf wiederholte man den gleichen Versuch bei gleicher Konzentration

unter Einschaltung eines Tieres in den Kasten. Was jetzt in den Absorptionsgefäſsen weniger erschien, muſste im Tier geblieben sein.

Diese einfache Aufgabe erwies sich als auſserordentlich viel schwerer als sie aussieht. Ich habe mit jodsaurem Kali, das mit einem Tropfen Schwefelsäure angesäuert war, leicht den Luftstrom, der aus dem Kasten kam, so vollständig von Arsen befreien können, daſs er nachher in reiner Silberlösung keine Schwarzfärbung mehr hervorbrachte. Als ich aber nun versuchte, in dieser Jodsäuremischung das Arsen quantitativ wiederzufinden, ergaben Bestimmungen, bei denen das Arsen als arsensaure Ammoniak-Magnesia gewogen wurde, nur 40—80% der gesuchten Menge. Nicht besser waren meine Resultate, als ich das ausgeschiedene Jod mit Chloroform ausschüttelte und mit Thiosulfat titrierte; ich konnte auch nur 50—70% der theoretischen Menge wiederfinden.

Durch Überlegen kam ich dann darauf, daſs eine quantitative Ausscheidung des Jods wohl nicht zu erwarten sei.

Ist die erste Reaktion nach den Büchern



$$8\ JO_3H + 5\ AsH_3 = 5\ AsO_4H_3 + 8\ J + 4\ H_2O,$$

so wird nicht zu bestreiten sein, daſs weiterer AsH_3 folgendermaſsen wirkt:

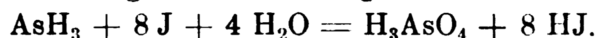


$$AsH_3 + 8\ J + 4\ H_2O = H_3AsO_4 + 8\ HJ$$

Ich muſste also nur einen Teil des zu erwartenden freien Jods und nur einen Teil der theoretischen Arsensäure erhalten.

Nachdem ich viele Zeit auf diese Versuche verwendet hatte und schon anfing, etwas mutlos zu werden über die schlechten Resultate, kam ich auf die Idee, einmal eine Jod-Jodkaliumlösung zur Absorption des AsH_3 aus dem Luftstrom zu verwenden. Ich hatte mich rasch überzeugt, daſs die Angabe der Herren Lockemann und Reckleben, wonach man mit einer $^1/_{10}$-Normal-Jod-Jodkaliumlösung leicht Arsenwasserstoff in der Gaspipette absorbieren kann, richtig ist. Ich erhielt in der Tat in mehreren vergleichenden Versuchen mit der volumetrischen Bestimmung durch Jod-Jodkaliumlösung und durch jodsaures Kali vollkommen

übereinstimmende Zahlen. Nach den Angaben der genannten Forscher reagiert Jod mit Arsenwasserstoff unter Bildung von Arsensäure nach folgender Gleichung:



$$AsH_3 + 8\,J + 4\,H_2O = H_3AsO_4 + 8\,HJ.$$

Ich schlofs daraus, dafs die Luft diese Reaktion wohl nicht beeinflussen wird, aufser dadurch, dafs der Luftstrom etwas Jod entführt. Dagegen konnte ich mich aber leicht schützen, indem ich den Luftstrom, nachdem er 3 Jod-Jodkaliumflaschen mit je 50 ccm Inhalt passiert hatte, noch durch eine Natriumthiosulfatlösung schickte, welche Joddämpfe zurückhielt.

Aber auch diese Methode bedarf eines kleinen Kunstgriffs. Wie Reckleben und Lockemann angeben, mufs dafür gesorgt sein, dafs die Reaktion immer schwach alkalisch bleibt. Zu diesem Zwecke habe ich, wie diese Forscher, etwas Kalziumbikarbonat, d. h. etwas Kalziumcarbonat und einen Tropfen 10 proz. Schwefelsäure, zugegeben.

Ich arbeitete regelmäfsig folgendermafsen: Die aus dem Kasten angesaugte Luft passierte drei Gefäfse mit 20, 20 und 10 ccm $^1/_{10}$-Normaljodlösung (bei starker Konzentration); bei schwacher Konzentration 20, 10 und 5 ccm und hierauf eine Waschflasche mit 30 ccm $^1/_{10}$-Normalthiosulfat.

Wenn die gesamte Arsenwasserstoffmenge aus meinen Glasgefäfsen dem Kasten zugeleitet worden war, leitete ich ca. 20 Min. Luft durch den Kasten. Wie die Kontrollversuche zeigen, genügt dies. Es wurden dann die drei Jodvorlagen zusammengegossen, nachgespült und das nicht reduzierte Jod mit Chloroform ausgeschüttelt (bis zu zehnmal mit je 30 ccm). Hierauf wurde das Natriumthiosulfat mit Jod titriert und seine Titerabnahme dem gefundenen Jod zugezählt. Für jeden Kubikzentimeter $^1/_{10}$ Normaljodlösung, die weder als solche noch im Natriumthiosulfat wiedergefunden wurde, wurden 0,975 mg Arsenwasserstoff gerechnet nach der Formel: $12{,}7 : x = 1016 : 78$.

Blinde Versuche ohne Tier ergaben folgende Resultate (Versuche 15, 16, 17): Es wurden wiedergefunden von den angewendeten 5,2, 5,3 und 8,4 ccm Arsenwasserstoff 96,5%, 98,8% und 97,15% — wohl als sehr befriedigend zu bezeichnende Resultate.

Da aus verschiedenen Arbeiten des Würzburger Instituts die Absorption der Haut und Haare von Tieren deutlich hervorgeht, so habe ich zunächst einige Versuche über AsH_3-Absorption durch tote Tiere gemacht. Dieselben ergaben:

1. Tote Katze, 1950 g schwer, liefs bei dreistündiger Versuchsdauer und einem Gehalt von 0,03 ‰ aus 5,12 ccm Arsenwasserstoff 0,43 ccm verschwinden, da 4,69 wiedergefunden wurden, also

absorbiert 8,38 %, wiedergefunden 91,62 %.

2. Totes Kaninchen, 1480 g schwer, liefs bei fünfstündiger Versuchsdauer und einem Gehalt von 0,039 ‰ aus 6,58 ccm Arsenwasserstoff 0,94 ccm verschwinden, da 5,64 ccm wiedergefunden wurden, also

absorbiert 14,24 %, wiedergefunden 85,76 %.

An den lebenden Tieren wurden folgende Zahlen gefunden:

Tabelle II. **Katzen.**

Tier-Nr.	Gewicht in g	Versuchsdauer in Std.	Volum ‰ AsH_3	Absolut zugeführte Menge ccm	Absolut wiedergefund. Menge ccm	Absorb. Volum pro Tier	Abs. Gewicht des absorb. AsH_3 in mg	Absorb. Gewicht pro 1 kg in mg	Absorb. in % des zugeführten AsH_3
8	3900	3	0,045	6,56	4,04	2,52	8,77	2,2	38 +
9	1930	3	0,039	6,54	4,19	2,35	8,17	4,2	36
10	2575	3	0,050	8,385	4,46	3,925	13,66	5,0	47 +
11	2200	3	0,040	6,66	3,30	3,36	11,70	5,0	50 +
12	1880	3	0,030	5,12	2,97	2,15	7,50	3,9	42
13	2160	3	0,030	5,12	3,33	1,73	6,21	2,9	35
14	1270	3	0,020	3,51	3,07	0,44	1,52	1,2	12
15	1600	3	0,020	3,43	3,10	0,31	1,15	0,7	10
16	2035	3	0,020	3,24	2,88	0,36	1,26	0,6	11

Von diesen Versuchen ergeben die mit Dosen von 0,03 bis 0,05 ausgeführten eine Absorption von 36—50 % des zugeführten Arsenwasserstoffs, aus Gehalten von 0,02 haben die drei letzten Katzen nur 10—12 % absorbiert.

Die absolute Menge des aufgenommenen Giftes betrug 13,7 bis 1,3 mg AsH_3, die aufgenommene Menge pro 1 kg war im allgemeinen einigermafsen proportional der Konzentration des dar-

gebotenen Gases, nur absorbierte Tier 8 auffallend wenig im Verhältnis zu seinem groſsen Gewicht.

Auch die Wirkung entsprach ungefähr der aufgenommenen Menge, Katze 27 erwies sich allerdings als besonders unempfindlich und Katze 18 als auffallend empfindlich.

Tabelle III. (Weitere Katzen-

Nummer des Tieres	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm Arsenwasserstoff	Konzentration des Arsenwasserstoffes pro mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
8	3900	160	7,2	0,045	3	20. VII. 1909.	Anfangs etwas unruhig, Schreien, Respiration 42, sinkt allmählich bis 30 und 28. Beim zweiten Teil des Versuches war das Tier ganz ruhig.

Die eben besprochenen Versuche boten in ihren Symptomen und in ihrem Sektionsbefund nichts wesentlich Neues vor den früher mitgeteilten. Ich berichte also der Kürze wegen über die Symptome nur in einer kleinen Tabelle.

versuche. Ergänzung zu Tabelle I.)

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Nach dem Versuch scheint das Tier normal, trinkt noch Milch; am folgenden Tag matt, frifst nichts. Herzschläge 100, Respiration 60, apathisch betäubt. Am 22. VII. grofse Schwäche, liegt, frifst nichts, etwas Blutharn, abends Agonie. Respiration 160—170, Pupillen max. erweitert, Herzschläge 150; das Tier stirbt am Morgen des 23. 72 bis 73 Stunden nach dem Ende des Versuches.	Sektion 2 Stunden nach dem Tode. Gewicht 3220 g. Leichenstarre, deutliche Gelbsucht an Augen und Mundschleimhaut zu sehen, Gewebe auffallend trocken, Tier mager, die Haut ist schwer abzuziehen, subkutanes Fett spärlich, stark gelb gefärbt, Harn braun, ca. 20 ccm, spektroskopisch Methämoglobin und Oxyhämoglobin enthaltend. Das reichliche Sediment von braunroter Farbe besteht aus roten Blutkörperchen, die ihre Form grofsenteils verloren haben und zu klumpigen Massen zusammengeballt sind, stellenweise sind sie auch zu kurzen, brüchigen, zylindrischen Gebilden verbunden. Die Niere etwas vergröfsert, von gelbbrauner Farbe, Kapsel löst sich leicht. Auf dem Längsschnitt zeigt die Niere eine gelbbraune Färbung der Rinde, die Marksubstanz ist gelbbraun, aber von zahlreichen schwarzroten radiären Streifen durchsetzt, Nierenrinde stark fetthaltig, Blut sehr dünnflüssig, mit einem Stich ins Gelbe, mikroskopisch nichts Auffallendes zu sehen, ziemlich gute Geldrollenbildung, keine Schatten. Leber gelb, 107,5 g Gewicht, ziemlich blutreich, bei der frischen Mikroskopierung kleinerer Leberstückchen fällt ein starker Fettgehalt der Leberzellen und insbesondere eine prachtvolle Injektion der Gallengänge mit einer gelbleuchtenden Masse auf, die geronnen scheint. Dementsprechend ist die Gallenblase und der Gallengang strotzend mit dickflüssig gefüllt, Herz grofs, von gelbem Fett überwachsen, auch Herzmuskeln gelblich, mikroskopisch scheinen die Muskelfasern kernig getrübt. Querstreifung des Herzmuskels nicht deutlich, die Körnchen mit Sudan zu färben, gelingt am frischen Präparat nicht befriedigend. Lunge gut kollabiert, die Spitze des mittleren Lappens zeigt eine kleine Blutung, kein ausgesprochenes Lungenödem. Magen und Darm ganz leer. Milz mittelgrofs, Trockensubstanz der Niere enthält 27,5 % Fettsäure, die der Leber 19 %.

Fortsetzung der

Nummer des Tieres	Gewicht in g	Durchgesaugte Luftmenge in l	Eingeleitete ccm Arsenwasserstoff	Konzentration des Arsenwasserstoffes pro Mille	Dauer des Versuchs in Std.	Datum	Symptome während des Versuchs
9	1930	180	7,1	0,039	3	14. IX.	**Tier bleibt ziemlich ruhig, Atmung 26—30, nach 2 Stunden Kotentleerung unter Brechen, dann wieder ruhig.**
10	2575	180	9,0	0,05	3	24. IX.	**Im Versuch sehr ruhig, Respiration 24—30, später Halbschlummer.**
11	2200	180	7,2	0,040	3	27. IX.	**Nichts Besonderes, Respiration 36 bis 24, Tier ruhig.**

Ich teile nun noch einiges mit über Versuche am Kaninchen ohne Ventilator.

Ich habe am gleichen Kaninchen an 5 aufeinander folgenden Tagen die Aufnahme des Arsenwasserstoffs während 3 Stunden bei der minimalen Zufuhr von 1,95—2,23 ccm Arsenwasserstoff

Tabelle III.

Symptome nach dem Versuch	Sektion
Das Tier trauert 3 Tage lang, frifst nichts, scheint müde, es wird kein bluthaltiger Harn beobachtet, am 4. Tage erholt es sich und wird noch 14 Tage beobachtet.	Keine Sektion.
Das Tier scheint nicht wesentlich affiziert frifst, stirbt aber im Laufe der Nacht und wird totenstarr am anderen Morgen gefunden. In der Nacht hatte Erbrechen stattgefunden. Der Tod ist 6—8 Stunden nach dem Versuche eingetreten.	Die Sektion ergab keine auffallenden Veränderungen. Die Leber, 66 g, zeigte eine geringe Verfettung und reichlichen Blutgehalt. Die Nieren sind nicht vergröfsert, nicht sehr blutreich, die Rindensubstanz ziemlich fettreich, die Spektroskopie des Blutes ergab ebensowenig wie die Mikroskopie etwas Auffallendes. Magen und Darm leer, leider auch die Harnblase. Sonst nichts Auffälliges, namentlich Brustorgane normal.
Keine Nahrungsaufnahme, am anderen Morgen tot, d. h. 12 bis 13 Stunden nach dem Versuche.	Sehr ähnlich wie bei der vorhergehenden Katze, d. h. Leber, 80 g, etwas vergröfsert, in der Niere starke Blutstauung und vermehrter Fettgehalt. Brustorgane normal, Magen und oberer Teil des Darmes leer; der Harn war in diesem Fall blutreich, gab Oxyhämoglobin und Methämoglobinspektrum, mikroskopisch keine roten Blutkörperchen, aber einige Epithelien und einige deutliche hyaline Zylinder. Organe der Brusthöhle normal. Blut enthält viele normale rote Blutkörperchen und selten Schatten.

bestimmt, der Gehalt betrug 0,012—0,013 ‰. In allen Versuchen fand ich 1,43—1,50 ccm Arsenwasserstoff nicht absorbiert oder 0,63, 0,7, 0,61, 0,58, 0,52 ccm absorbiert — also vortrefflich stimmende Resultate. Das Tier war nach dem 5. Versuche zum erstenmal etwas matt, erholte sich aber bald und lebte wochen-

lang in ungestörter Gesundheit. Nach Stadelmann (a. a. O.) sind übrigens Kaninchen etwas weniger empfindlich als Katzen. Das Nähere ergibt sich aus folgender Tabelle:

Tabelle IV.

Kaninchen	Gewicht in g	Versuchsdauer in Std.	Volum ‰ AsH_3	Absol. zugeführte Menge ccm	Absol. wiedergefund. Menge in ccm	Absorb. Volum pro Tier	Absol. Gewicht des absorb. AsH_3	Absol Gewicht pro kg	Absorb. in % der Vergiftung
Braun . .	1500	2,5	0,062	5,76	3,82	1,94	6,64	4,4	33 — tot
Schwarz, ruhig	1495	2,75	0,013	1,96	1,45	0,51	1,78	1,2	26
	1465	3,0	0,012	2,03	1,40	0,63	2,10	1,40	30
	1440	3,0	0,013	2,23	1,54	0,69	2,39	1,65	31 gesund.
	1510	3,0	0,012	2,11	1,50	0,61	2,10	1,40	28
	1430	3,0	0,012	2,05	1,47	0,58	1,99	1,40	28
	1350	2,8	0,012	1,95	1,43	0,52	1,80	1,30	26

Es mag hier noch ein Versuch eingefügt werden, den ich an einem Kaninchen mit einer gröſseren Dosis ausgeführt habe. Das Tier wog 1500 g. Dasselbe verweilte $2^1/_2$ Stunden in dem Kasten. Es wurden in dieser Zeit 100 l Luft durchgesaugt. Der Gehalt an Arsenwasserstoff betrug 0,062 ccm im Liter. Es brachte aus 18,76 ccm Arsenwasserstoff, die ihm zugeführt waren, 13,35 zum Verschwinden, hat also eine relativ groſse Arsenwasserstoffdosis aufgenommen (ca. 70%).

Die Symptome waren folgende: Während des Versuches verhielt sich das Tier ruhig wie auch die Katzen. Respiration zwischen 55 — 46. Friſst nach dem Versuch noch, wird etwa 8 — 10 Stunden nach dem Versuch tot aufgefunden. Die Sektion wurde 12 Stunden nach dem Tod angeschlossen. Es besteht Leichenstarre, keine Gelbfärbung der Konjunktiva, unterhalb der Zellengewebe kein besonderer Befund, in der Bauchhöhle und im Herzbeutel etwas blutige Flüssigkeit, Blut sehr stark geronnen, beide Herzkammern und Vorkammern mit Blutgerinnseln gefüllt, die Aorta enthält dafür kein Serum. Nieren

sehr dunkelrot, Kapsel löst sich leicht, die Oberfläche zeigt viele schwarzrote, bis 1 mm grofse Fleckchen, wohl erweiterte Venen, Harn dunkelrot, enthält reichlich Oxyhämoglobin, eine unsichere Spur von Methämoglobin. Leber und Magen ohne Befund, Lungen gut kollabiert, fast luftfrei, etwas Lungenödem. Das Herz zeigt mikroskopisch neben wohl erhaltenen Fasern eine Anzahl solcher, bei denen die Querstreifung nicht deutlich zu erkennen ist.

8. Versuche über den Nachweis des Arsens in den vergifteten Tieren.

Die Gosiosche biologische Arsenprobe, welche von so vielen Autoren sehr gelobt wird, schien es sehr leicht zu machen, in den Organen der vergifteten Tiere Arsen aufzufinden. Nachdem ich mir gute Kulturen von Penicillium brevicaule verschafft, gelang auch mir auf Agar- oder Kartoffelkulturen sehr leicht der Nachweis von zugesetzten Arsenmengen bis zu $^1/_{10}$ mg, mit Brot hatte ich auffallend schlechte Resultate, namentlich war das Pilzwachstum recht schlecht. — Über meine zahlreichen Versuche an frischen und in Alkohol konservierten Organen meiner gestorbenen Katze kann ich hier nur so viel sagen: Es gelang mit Kartoffelnährböden, in die ich ein Stück Tierorgan eingeklemmt hatte, der Nachweis einmal in Muskel, in pleuritischer Flüssigkeit und Milz. Bei der Leber hatte ich wegen des Ammoniakgeruches des gekochten Organs, bei Nieren wegen des Moschusgeruches wenig deutliche Resultate (einmal allerdings auch bei der Niere ein deutlich positives Resultat). Jedenfalls liefs sich meine Hoffnung nicht verwirklichen, aus der Stärke der Reaktion einen Mafsstab zu gewinnen für die relative Menge des Arsens in den einzelnen Organen. Dies müfste auf chemischem Wege ermittelt werden.

9. Zur Prophylaxe der Arsenwasserstoffvergiftung.

Es versteht sich von selbst, daſs durch Ersatz der arsenhaltigen Materialien durch arsenfreie (Metalle, Säuren) die Gefahr der Arsenvergiftung sich beseitigen lieſse. Dies ist aber technisch nicht möglich, man wird also das Arbeiten mit Substanzen, deren gegenseitige Einwirkung AsH_3 entbindet, am besten unter Abzügen oder im Freien vornehmen.

Besondere Aufmerksamkeit verdient der technische Wasserstoff des Handels, der zur Füllung von Luftschiffen, zum Löten mit dem Knallgasgebläse usw. eine wichtige Rolle spielt. Dem Chemiker O. Wentzki in Frankfurt am Main ist kürzlich der von der Berufsgenossenschaft für chemische Industrie ausgeschriebene Preis für eine Reinigungsmasse für den technischen Wasserstoff verliehen worden (vergl. Zeitschr. f. Gewerbehygiene 1906, S. 459). Sie besteht aus einem grobkörnigen, festweichen Gemisch von 2 Teilen Chlorkalk und 1 Teil feuchtem Sand. Der Wasserstoff soll nach seiner Entwicklung sofort durch das Gemisch durchströmen, von dem ein Gefäſs etwa vom halben Volumen des Wasserstoffentwicklers nötig ist. Um Chlorspuren zu entfernen, passiert das Gas nachher nochmals trockenen gelöschten Kalk.

Eigene Versuche über die Wirkung des Verfahrens in dieser Anordnung habe ich nicht gemacht, doch sind meine Erfahrungen über die Absorbierbarkeit des AsH_3 durch Chlorkalklösungen, wie ich oben darlegte, sehr günstig.

10. Zusammenfassung der eigenen Resultate über die Giftigkeit des Arsenwasserstoffs.

1. Meine Versuche haben zum erstenmal die Giftigkeit des Arsenwasserstoffs in sehr kleinen, analytisch geprüften Dosen unter gleichzeitigem Luftwechsel während längerer Zeit studierte.

2. Zur Analyse des Arsenwasserstoffs bei einem Gehalt von 10—30% erwies sich die volumetrische Methode mit Chlorkalklösung, Silbernitrat und Kaliumjodat gleich brauchbar.

3. Für Katzen sind 0,05 ‰ in 1 — 1½, 0,04 ‰ in 3 Std. sicher tötlich. Die Dosis 0,01 ‰ hat in 3, ja, 5 Std. niemals geschadet, ist auch mehrfach mehrere Tage hintereinander 3 Std. lang vertragen worden. Die Dosis von 0,02 ‰ ist für Tiere in 3 Std. ernsthaft gefährlich gewesen, die Erkrankung war stets nicht sehr schwer. Mehrmalige Einatmung dieser Dosis 3 Std. lang an aufeinander folgenden Tagen ist schon tötlich geworden. 0,03 ‰ tötet manche Tiere schon nach dreistündiger Einwirkung.

4. Die Auflösung der roten Blutkörper ist das auffallendste Symptom bei der Katze, das viele Symptome (Hämoglobinurie, Ikterus, Anurie, manche zerebrale Symptone) ungezwungen erklärt. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dafs Arsenwasserstoff noch auf andere Teile des Tierkörpers direkt wirkt — schwere Erkrankung bei fehlender Hämoglobinurie ist beobachtet. Anderseits sind manche Hämoglobinurieformen des Menschen nicht von ernster Erkrankung begleitet. Phosphorwasserstoff ist schwer giftig, ohne Hämoglobinurie hervorzubringen.

5. Es liefs sich nachweisen — durch Differenz —, dafs die Tiere aus einer AsH_3-Atmosphäre Arsenwasserstoff absorbieren. Die absoluten Mengen des bei tötlichen Vergiftungen als absorbiert berechneten Giftes betrugen 8,7, 11,7, 13,7 mg. Mengen von 6,2 und 8,1 mg machten mittelschwere Erkrankung, einmal fehlte eine Erkrankung bei 7,5 mg. Mengen von 1—2 mg machten keine Erkrankung. Von diesen als absorbiert berechneten Mengen sind 1—2 mg abzuziehen, die noch das tote Tier aufnimmt. Es dürften also etwa 7—10 mg AsH_3 die Dosis lethalis für eine Katze bedeuten und Mengen von 1—2 mg noch ungefährlich sein, wenn sie in 3 Std. aufgenommen worden.

6. Meine Giftigkeitszahlen stimmen auffallend gut mit denen nach ganz anderen Prinzipien und Methoden festgestellten von Heim und Hébert.

7. Die Hygiene mufs den Arsenwasserstoff möglichst absolut von geschlossenen Arbeitsräumen ausschliefsen.

8. Die Dosis für den Menschen, die man ihm noch vorübergehend zumuten darf (für 1—2 Stunden) dürfte keinesfalls höher als 0,01 ‰ angenommen werden.

Zum Schlufs erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. K. B. Lehmann, mit dessen Unterstützung die obige Arbeit in seinem Institut ausgeführt und diese deutsche Ausgabe redigiert worden ist, meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen. Auch dem ersten Assistenten des Instituts, Herrn Dr. H. K. Lang, bringe ich meine Anerkennung für seine kollegiale Mitwirkung an dieser Arbeit.

Würzburg, Februar—Dezember 1909.

Über die Wirkung dauernd verabreichter kleiner Chininmengen auf die Entwicklung des tierischen Organismus und dessen Neigung zu Infektionskrankheiten.

Beitrag zum Studium der Prophylaxis der Malaria.

Von

Dr. **Albert Graziani,**

Dozent und Assistent am Hygienischen Institut der Universität Padua.
(Direktor: Prof. A. Serafini.)

Die Prophylaxis der Malaria durch Chinin hat in Italien erfolgreiche Verteidiger und besondere Gesetze gehabt, so daſs der von den Ärzten und der Bevölkerung günstig aufgenommene Gebrauch des Chinins sich beinahe über alle von Malaria heimgesuchten Gegenden verbreitet hat. Abgesehen von den damit erreichten Resultaten im Kampf gegen die Malaria und die Art seiner Wirkung, fand sich der Hygieniker dem Problem gegenüber, ob die dauernde Verabreichung kleiner Chininmengen, auch wenn sie dem Zweck der antimalarischen Prophylaxis entspricht, nicht unter Umständen dem Organismus in anderer Beziehung Schaden brächte.

Es ist bekannt, daſs auch nur kleine Dosen von Chininlösungen auf einige Protoplasmen, Infusorien oder Bakterien als Gift wirken; sie sind ferner imstande, die Wirkung einiger Enzyme, wie das oxydierende Enzym, das Labferment etc., aufzuhalten.

Die weiſsen Blutkörperchen werden durch die Wirkung des Chinins paralysiert und groſse Dosen können ihre Zahl im Blut-

kreislauf auf ein Viertel oder auf noch weniger verringern. Auch die roten Blutkörperchen spüren den Einfluſs des Chinins, welches eine hämolytische Wirkung auszuüben scheint, da nach Verabreichung von 1 g ihre Zahl sich verringert und gleichzeitig die Färbesubstanz des Blutes auch einige Veränderung erleidet.

Im Verdauungsapparat entstehen vorerst leichte Störungen und nach längerem Gebrauch können katarrhalische Zustände eintreten; auch an den Nieren können sich Reizerscheinungen zeigen.

Durch Verabreichen von Chinin werden auch der Blutumlauf, der Blutdruck und die Atmung beeinfluſst, und zwar durch die auf die Nerven der Innenorgane ausgeübte Wirkung des Chinins, welche sich auch auf das Zentralnervensystem erstreckt.

Noch interessanter ist der Einfluſs des Chinins auf den Stoffwechsel, der sehr herabgesetzt wird, wie das die verminderte Ausscheidung von Kohlensäure und aller Stoffwechselprodukte des Stickstoffs beweist. Die Verminderung wird unzweifelhaft von der Einschränkung der Oxydationsprozesse durch gestörte Affinität des Protoplasma zum Oxygen hervorgerufen.

Deshalb hat Serafini schon im Jahre 1902 bezüglich der Prophylaxis durch Chinin bei Malaria in seinem Bericht über die Malaria in der Provinz Venedig richtig bemerkt: »Die Hygiene kann und darf nur vorübergehend eine Prophylaxis zum Ziele haben, die auf der Einführung von Arzneien in den Organismus beruht, durch welche, wenn auch in geringem Maſse, ein anormaler, nicht physiologischer Zustand hervorgerufen wird.«

Diese Ansicht beginnt jetzt, gegenüber dem groſsen Enthusiasmus für die Chininprophylaxis, die verdiente Berücksichtigung zu finden, und tatsächlich hat Gabbi in einem offenen, undatierten, im Mai 1908 den Professoren Celli und Castellino übersandten Briefe klipp und klar das Problem gestellt: Es wäre zu untersuchen, ob kleine, tägliche, durch 5 bis 6 Monate verabreichte Chininmengen unserem Organismus nützlich, indifferent oder schädlich sind, indem er gleichzeitig bekannt gab,

dafs er an einigen Studenten der Medizin die vom Chinin etwa hervorgerufenen Veränderungen studierte. In seinem kürzlich erschienenen Generalbericht über die Mafsnahmen gegen die Malaria in der Provinz Messina v. J. 1907, in welchem das Ergebnis dieser Untersuchungen veröffentlicht wird, führte er aus, dafs die Alkalinität, die Zähigkeit und das hämolytische Vermögen des Serums augenscheinliche und dauernde Veränderungen erleiden, und betonte neuerdings die Möglichkeit der dem Organismus durch dauernd verabreichte kleine Chininmengen zugefügten Schädigung. Die Lösung des so klar vorgezeichneten Problems ist geboten, aber sie ist durchaus nicht leicht, da sie nicht auf die Untersuchung der Blutmischung und auf die vorgenannten Versuche beschränkt bleiben darf. So erscheint es in Anbetracht der ausgedehnten Verwendung des Chinins bei vor der Malaria zu bewahrenden Kindern richtig, die Wirkung zu beobachten, welche eine Darreichung desselben auf das Wachstum hervorruft. Aufserdem ist es von hervorragendem Interesse, zu wissen, ob die zwecks antimalarischer Prophylaxis statthabende Verwendung des Chinins im Organismus Veränderungen hervorbringt, durch die er für andere Infektionen empfänglicher wird, indem seine natürliche Verteidigungskraft sich verringert oder die organischen Verhältnisse sich so verändert finden, dafs er aufserstande ist, gegen Infektionskeime durch Bildung von Antikörpern zu reagieren.

Wie schon gesagt wurde, ist die Lösung des Problems von diesen Gesichtspunkten aus, die ich für die wichtigsten halte, durchaus nicht einfach, da man begreift, dafs gewisse Untersuchungen nicht auf experimentellem Wege am Menschen ausgeführt werden können, sondern der längere, ungewisse und nicht weniger schwierige Weg epidemiologischer Versuche eingeschlagen werden mufs. Es wäre z. B. nötig, die menschlichen Organismen, mit Ausnahme der Chininverabreichung, unter identischen Verhältnissen zu halten und die Zunahme des Wachstums und die Sterblichkeit infolge anderer Krankheiten der mit Chinin Behandelten verglichen mit den nicht so Behandelten festzustellen, wodurch alle anderen Einflüsse mit Sicherheit ausgeschlossen

würden, die auf das Wachstum oder auf die Veranlagung zu anderen Krankheiten einwirken könnten.

Deshalb habe ich mich, nicht um diese wichtige Frage zur Entscheidung zu bringen, sondern um einen Beitrag dazu zu liefern, bei Eintreffen der letzten Veröffentlichungen Gabbis entschlossen, zu untersuchen, welche Wirkung die langdauernde tägliche Verabreichung kleiner Chininmengen auf Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) in den Sommermonaten hervorbringen könnte, und hierauf bezog sich eine erste im Sommer 1908 ausgeführte Versuchserie, über die ich im Oktober 1908 in der Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche Nr. 125 einen vorläufigen Bericht erstattete.

Konnten die Ergebnisse dieser ausschließlich an Tieren vorgenommenen Untersuchungen ohne weiteres auf Menschen Anwendung finden?

Gewiſs nicht, und gerade hier liegt ein Fall vor, bei dem die höchste Vorsicht walten muſste, die an Tieren erhaltenen Schluſsfolgerungen leichthin auf den Menschen zu übertragen, wenn auch anderseits nicht vergessen werden darf, daſs ein groſser Teil der klinisch anerkannten Wahrheiten in der Seuchenlehre vom Menschen bezüglich Behandlung und Prophylaxis, notwendigerweise an Tieren ausgeführte Versuche zur Grundlage halten. Wenn übrigens, wie das auf medizinischem Gebiete anerkannt werden muſs, Analogieschlüsse einen Wert besitzen, so werden durch diese meine ersten Untersuchungen manche Tatsachen an Stelle von Vermutungen gesetzt, auf welchen bisher die Meinung über die Unschädlichkeit der Chininprophylaxis beruhte.

Da ich bei der ersten Versuchsreihe im Jahre 1908 nicht alle an Tieren möglichen Beobachtungen durchführen konnte, begann ich zur Vervollständigung derselben im Sommer 1909 eine zweite Serie. Ferner konnte die Schwierigkeit, am Menschen zu experimentieren, auf die ich schon früher hingewiesen habe, durch die Freundlichkeit des Kommandanten des hier garnisonierenden 14. Infanterieregiments und durch emsige und verständnisvolle Mithilfe des Regimentsarztes Costa überwunden

werden, denen ich aufrichtigen Dank schulde. Sie gestatteten mir, 15 Soldaten — die dann auf 12 beschränkt wurden — zur Behandlung mit Chinin und weitere 15 zur Kontrolle auszuwählen, und versprachen mir, was auch eingehalten wurde, es so einzurichten, dafs in beiden Gruppen die Lebensführung die gleiche bleiben würde. Keine andere Gattung von Versuchspersonen würde sich besser zu diesem Zwecke geeignet haben als Soldaten, weil alle jung, gesund und kräftig und gleichen Alters sind und weil sie ferner dasselbe Leben führen und die gleiche Art und Menge Arbeit leisten müssen.

Über diese zweite Serie Untersuchungen habe ich in einem zweiten vorläufigen Bericht in der Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche Nr. 112, 12. Okt. 1909, Rechenschaft abgelegt.

Sowohl bei der ersten als bei der zweiten Versuchsreihe wurde den Tieren das Chinin durch subkutane Injektionen beigebracht, welches Verfahren sich als das geeignetste erwies. Wir wissen nichts Gewisses darüber, wie die Absorbierung des Chinins bei Tieren erfolgt und ob es beim Zusammenkommen mit frischer vegetabilischer Nahrung sich nicht verändert. Ebensowenig kann man sich davon Vorteil versprechen, die Tiere längere Zeit fasten zu lassen, denn der Kaninchenmagen leert sich nur langsam und selbst 18 bis 20 Stunden nach der Fütterung enthält er noch eine ziemliche Menge Speisebrei. Deshalb habe ich zur Verabreichung statt des unsicheren Verdauungsweges den der Einspritzungen gewählt, der Gewähr für Aufsaugung des Chinins gibt und wodurch eine wichtige Bedingung für derlei Versuche erfüllt wird. Die einzige Vorsichtsmafsregel, die ich beim gröfsten und gerade wichtigsten Teile meiner Untersuchungen nicht aus den Augen verlor, bestand in Verabreichung sehr verdünnter Lösungen, um eine lokale Reaktion der Gewebe infolge der bekannten Reizwirkungen des Chinins zu vermeiden. Die Technik war bei beiden Versuchsreihen die gleiche, aber natürlich mit den jeder besonderen Untersuchung angepafsten Abänderungen, die ich bei den einzelnen Fällen angeben werde.

Bei meinen Untersuchungen gebrauchte ich Chininhydrochlorid, da es zu Einspritzungen meist gebräuchlich und vorzuziehen ist.

. Die Tagesdosis mufste natürlich der für die antimalarische Prophylaxis empfohlenen entsprechen und diese ist 0,30 g täglich oder 0,005 g per kg, wobei der Erwachsene (Mann oder Frau) zu 60 kg gerechnet ist. Daher bediente ich mich einer Lösung von Chininhydrochlorid zu 5 ‰, von der 1 ccm genau 0,005 g Salz enthält. Ich injizierte also für jedes Kilogramm des Kaninchens 1 ccm dieser Lösung, die wegen ihrer starken Verdünnung keine lokale Reaktion hervorruft.

Da ich der praktischen Ausführung wegen vorzog, die einzuspritzende Flüssigkeitsmenge auch bei den Meerschweinchen mit ungefähr 1 ccm auf je 400 g Gewicht festzusetzen, gebrauchte ich eine Lösung von 2 ‰. 1 ccm dieser Lösung entspricht bei 400 g Gewicht genau 0,30 g auf je 60 kg.

Weil aber in Fällen, wo die tägliche Verabreichung von Chinin nicht angeht, geraten wird, wöchentlich an 2 oder 3 Tagen 1 bis 1,50 oder 0,025 g pro kg einzunehmen, habe ich bei meiner ersten Versuchsreihe auch diese andere Verabreichungsmethode nicht vernachlässigen wollen, jedoch nur in ergänzender Weise zur Vervollständigung meiner Untersuchungen, da der eigentliche Gegenstand derselben den langdauernden täglichen Gebrauch des Chinins betrifft. Ich benutzte also eine Chininlösung von 25 ‰ für die Kaninchen und eine von 10 ‰ für die Meerschweinchen. Je 1 ccm derselben entsprach 0,025 g pro kg des Tiergewichtes.

Die Einspritzungen wurden an dem der Virusinokulation vorhergehenden Tage, am selben Tage und am folgenden vorgenommen, doch wurde bei der zweiten Versuchsreihe aus dem angegebenen Grunde diese Art der Verabreichung nicht angewandt.

Die injizierte Flüssigkeitsmenge stand sowohl bei den Kaninchen wie bei den Meerschweinchen im bestimmten Verhältnis zum Gewicht.

Die Kontrolltiere wurden von Anfang an, was Fütterung und Stallung betrifft, gleich den mit Chinin behandelten gehalten und bei allen Untersuchungen stimmte jedes Kontrolltier bezüglich Alter und Gewicht beinahe genau mit dem Versuchstier überein.

Versuchstiere hatte ich im ganzen weit über hundert, da ich auf das Verenden von einigen wegen von der Chininbehandlung unabhängigen Ursachen gefaſst sein muſste. Die Versuchsperiode dauerte im Jahre 1908 75 und 90 Tage und im Jahre 1909 über 100 Tage, während welcher Zeit die Einspritzungen jedem Tiere täglich gemacht wurden.

Um dem möglichen Einwand zu begegnen, daſs die Wirkung der Chininverabreichung wohl durch den Eingriff und die Lösungsflüssigkeit beeinfluſst werden könnte, machte ich einer Anzahl Kaninchen und Meerschweinchen durch lange Zeit den Chininlösungen entsprechende Kochsalzinjektionen und dehnte auf diese die gleichen Versuche aus, wie auf die anderen Tiere.

Die so behandelten Tiere zeigten keinen Unterschied im Vergleich mit den Kontrolltieren, daher die Differenzen im Verhalten zu den mit Chinin behandelten nur auf das injizierte Mittel zurückzuführen sind.

Bei einer so groſsen Zahl täglicher Injektionen ist die gebräuchliche Spritze unbequem und unpraktisch und das um so mehr, als in meinem Falle die dem Tiere einzuspritzende Flüssigkeit dem Gewichte desselben genau proportioniert sein muſste (auf Zehntelkubikzentimeter). Ich stellte daher einen ganz einfachen Apparat zusammen, der vorzüglich entsprach. Er besteht aus einer graduierten Bürette *A*, die am unteren Ende einen Gummischlauch *e* trägt, dem die Nadel ansitzt. Das obere ist mit einem doppeltgelochten Kork verschlossen, durch den zwei Glasröhrchen gehen, deren eines Tförmig ist. In zwei Flaschen *B* und *B'* befinden sich die titulierten Lösungen zu den Einspritzungen und diese Lösungen können durch die Gummischläuche *a* und *a'*, die sich im Tförmigen Stück vereinigen, abwechselnd in die Bürette gelangen. Die andere durch den Kork der Bürette gehende Röhre ist durch den Gummischlauch *p* mit der Flasche *D*

verbunden, nach welcher durch den Schlauch *b* das in der Flasche *C* befindliche Wasser abfliefsen kann. Die Flasche *D* hat noch einen dritten Hals, durch den eine bis zum Boden reichende Röhre geht, die mit dem zum Abflufs dienenden Schlauch *c* in Verbindung steht. Vor der Verwendung werden die Bürette *A* und die Flaschen *D* und *B* und *B'* mit den entsprechenden Lösungen samt den sie verbindenden Gummischläuchen durch Dampf sterilisiert, worauf der Apparat, wie in Figur 1 dargestellt, zum Gebrauch bereit ist. Wenn dies geschehen soll, öffnet man die Klemme *r*, worauf das in *D* befindliche Wasser nach vorherigem Ansaugen durch die Heberwirkung des Schlauches *c* abzufliefsen beginnt. Dann wird in der Flasche *D* und auch in der Bürette *A*, wenn die Klemme *p* geöffnet und alle anderen geschlossen bleiben, der Druck abnehmen und beim Öffnen der Klemmen *m* oder *n* werden die in *B* und *B'* befindlichen Lösungen in die Burette abfliefsen, während die Luft durch die Wattestopfen in *u* und *u'* eindringen kann. Auf solche Weise ist es möglich, von der sterilisierten Lösung so viel als nötig eintreten zu lassen. Man schliefst dann die Klemme *m* beziehungsweise *n* und schliefst auch *r*, so dafs aus *D* kein Wasser mehr abfliefst. Die Lösung in der Bürette hat dann einen gewissen Druck nötig, um durch die Nadel ins Zellgewebe der Tiere eingespritzt zu werden. Zur Erreichung dieses Druckes öffnet man die Klemme *o*, worauf das Wasser aus *C*

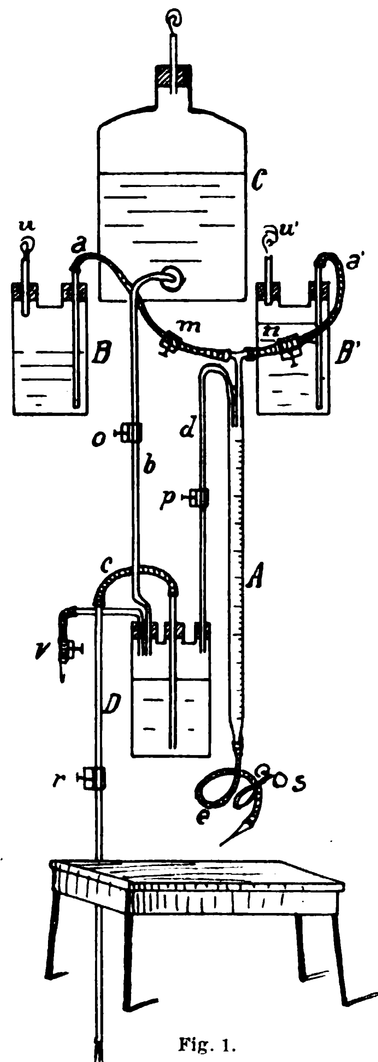


Fig. 1.

nach D abfliefst, bis der Luftdruck in D dem weiteren Zuflufs Widerstand leistet. Da die Luft in D mit jener der Bürette A durch den Schlauch d Verbindung hat, steht auch die Lösung in der Bürette unter entsprechendem Druck. Indem man C und D nähert oder entfernt, kann auch der Druck in D und somit in A vergröfsert oder verringert werden. Nach Einstechen der Nadel ins Zellgewebe des Tieres öffnet man die Klemme s und injiziert unter Beobachtung der Skala so viel als nötig.

Um das Verfahren möglichst abzukürzen, falls es auf viele Tiere ausgedehnt werden soll, ist es nötig, deren Fell an der Injektionsstelle abrasiert zu halten. Ein Gehilfe desinfiziert kurz vorher die Stelle, während ein anderer das Tier festhält. So unterstützt, habe ich pro Tier nicht mehr als 30 bis 40 Sekunden gebraucht und das Verfahren gegenüber der Anwendung einer Spritze bedeutend abgekürzt.

Wie schon erwähnt, habe ich meine Untersuchungen im Sommer 1909 auch auf Menschen, und zwar auf Soldaten, ausgedehnt.

Diesen wurde täglich des Morgens im Kasernenlazarett Chinin gegeben und stets unter Aufsicht des Unteroffiziers, damit man sicher sein konnte, es sei wirklich eingenommen worden. Man verabreichte 2 Tabletten von je 20 cg vom staatlichen Chininbisulphat, und zwar während 100 Tagen. Ich bemerke hier, dafs mit Ausnahme einiger, die von Anfang an über Magenbeschwerden, Ohrensausen usw. klagten und durch andere ersetzt werden mufsten, die übrigen es ohne Nachteil vertrugen.

Während der Zeit der Chininverabreichung und unter Berücksichtigung besonderer Umstände untersuchte Regimentsarzt Costa laut seines speziellen Berichtes das spezifische Gewicht des Harns und führte andere vergleichende urologische Analysen und klinische Beobachtungen aus. Seine Resultate sind aber teils negativ, teils unsicher und nur selten traten bei den mit Chinin Behandelten Erscheinungen auf, die den Kontrollpersonen fehlten.

Bei meinen Untersuchungen im Jahre 1908 und 1909 hatte ich mir insgesamt folgende Aufgaben gestellt:

I. Beobachten, wie sich das auf Grund des Gewichtes abzuschätzende Wachstum bei ganz jungen und jungen, durch 75 Tage den Chinininjektionen unterworfenen Tieren verhält im Vergleich zu anderen unter gleichen Lebensbedingungen gehaltenen, aber nicht chininisierten Tieren. Ebenfalls durch Gewichtsbeobachtung den Gesundheitszustand erwachsener, mit Chinin behandelter Tiere untersuchen.

II. Die eventuellen Veränderungen im Blute der mit Chinin behandelten Tiere bestimmen, wobei auf die spektroskopische Untersuchung, auf die Anzahl der roten Blutkörperchen und auf den Hämoglobingehalt Gewicht zu legen ist.

III. Die bakterientötende Kraft der Lunge der mit Chinin behandelten Tiere mit jener der Kontrolltiere vergleichen.

IV. Die bakterientötende und die phagozytäre Kraft des Blutserums der mit Chinin behandelten Tiere gegenüber dem Typhusbazillus mit anderen nicht so behandelten, aber sonst unter gleichen Bedingungen gehaltenen Tieren vergleichen.

V. Nachforschen, wie sich die Bildung von Antikörpern in mit Chinin behandelten und in den zur Kontrolle dienenden Tieren verhält, und zwar durch Untersuchung:

a) des Agglutinationsvermögens des Serums in gegen Typhus immun gemachten Tieren.
b) das Immunisierungsvermögen des Serums gegenüber dem Typhusbazillus durch das Pfeiffersche Phänomen zu bestimmen und
c) die bakterientötende Kraft gegenüber dem Typhusbazillus und den Opsoninenindex des Blutserums an zwei gegen Typhus immunisierten Tierserien zu untersuchen, deren eine über 100 Tage mit Chinin behandelt, die andere unter gleichen Bedingungen gehalten wurde und zur Kontrolle diente.

VI. Das Verhalten der mit Chinin behandelten und der Kontrolltiere gegenüber kräftigem Virus von

a) Milzbrand,
b) Pneumokokken,
c) Typhus,
d) Cholera.

VII. Untersuchung des Einflusses von einen Tag vor der Impfung beginnenden, ziemlich starken Chinininjektionen auf die Inkubationsperiode und den Verlauf der Infektion.

VIII. Vergleich der bakterientötenden und der phagozytären Kraft gegenüber dem Typhusbazillus des Blutserums einer Anzahl durch 100 Tage mit Chinin behandelter Menschen mit anderen nicht mit Chinin behandelten, aber durch Konstitution, Alter und Lebensführung in gleichen Umständen befindlichen Personen.

I. Wachstumszunahme bei jungen Tieren nach Gewicht. Gewichtsergebnisse bei ausgewachsenen Tieren.

Diese Untersuchungen wurden im Sommer 1908 und 1909 an nahezu allen mit Chinin behandelten und an den zur Kontrolle dienenden Tieren durchgeführt.

Da der Verlauf des Wachstums, nach Gewicht berechnet, je nach dem Alter des Tieres variiert, hat jedes injizierte Tier sein ihm nach Alter und Gewicht entsprechendes Kontrolltier, so dafs das Gesamtgewicht der injizierten Tiere sich nur wenig von den zur Kontrolle dienenden unterschied. Aufserdem habe ich jede Gruppe der injizierten und der Kontrolltiere in drei Untergruppen geteilt, um das Wachstum mit Bezug auf das Gewicht bei ganz jungen, jungen und ausgewachsenen Tieren beobachten zu können und so imstande zu sein, auf die erste Frage Antwort zu geben.

Untersuchungen 1908.

Diese Untersuchungen wurden an zwei Serien durchgeführt, deren eine aus Kaninchen, die andere aus Meerschweinchen bestand. Die erste Serie zählte 70 Kaninchen, von denen 35 der täglichen Chinininjektion unterworfen wurden und 35 zur

Kontrolle dienten. Die zweite Serie bestand aus 66 Meerschweinchen, von denen 33 injiziert und ebenso viele zur Kontrolle gehalten wurden.

I. Serie.

Die erste Untergruppe der mit Chinin behandelten Tiere bestand aus 12 ganz jungen Kaninchen, deren Gewicht von 600 g bis 1020 g betrug; die entsprechende Kontrollgruppe aus weiteren 12 Kaninchen, die von 605 g bis 955 g wogen. Nach 75 Tagen haben alle Kontrolltiere bedeutend zugenommen und die durchschnittliche Gewichtszunahme stellt sich auf 38 %; auch die mit Chinin behandelten Tiere haben an Gewicht, mit Ausnahme eines einzigen, stark zurückgegangenen, zugenommen, doch beträgt diese Zunahme durchschnittlich 21 %.

Die zweite Untergruppe der mit Chinin behandelten Tiere wurde von 15 jungen Kaninchen mit einem von 1040 g zu 1480 g steigenden Gewicht gebildet, die entsprechende Kontrollgruppe ebenfalls von 15 Kaninchen, die von 1000 g bis 1470 g wogen. Nach 75 Tagen nahmen die Kontrolltiere um durchschnittlich 12 % gegen das ursprüngliche Gewicht zu, während von den mit Chinin behandelten 2 Tiere eine starke Gewichtsabnahme zeigten und bei den anderen die Zunahme nur 7 % betrug.

Die dritte Untergruppe der chininisierten Tiere bestand aus 8 ausgewachsenen Kaninchen verschiedenen Gewichts von 1430 g bis 1950 g und ebenso viele umfaſste die Kontrollgruppe, deren Tiere von 1500 g bis 1850 g wiegen. Die durchschnittliche Zunahme der letzteren stellt sich auf 6 %, bei den mit Chinin behandelten nur auf 2 % und auſserdem zeigen die vier gröſsten Tiere eine Abnahme des Anfanggewichts.

II. Serie.

Die erste Untergruppe der mit Chinin behandelten Tiere bilden 16 sehr junge Meerschweinchen verschiedenen Gewichts von 75 g zu 320 g; die 16 Kontrolltiere wiegen 70 g bis 300 g. Nach 75 Tagen sind diese letzteren ungefähr doppelt so schwer geworden, denn die Gewichtszunahme beträgt im Durchschnitt 94 % des anfänglichen, während die mit Chinin behandelten nur eine Zunahme von 74 % aufweisen.

In der zweiten Untergruppe sind 8 junge mit Chinin behandelte Meerschweinchen und 8 Kontrolltiere. Das Gewicht der ersteren geht von 310 g bis 490 g und das der letzteren von 325 g bis 495. Nach 75 Tagen haben alle Kontrolltiere, ausgenommen ein stationär gebliebenes, an Gewicht zugenommen, im Durchschnitt 22 %, während von den chininisierten Tieren eines an Gewicht abgenommen hat und die übrigen eine mindere Zunahme, und zwar von nur 12 %, aufweisen.

In der dritten Untergruppe haben wir 9 ausgewachsene Meerschweinchen und 9 Kontrolltiere. Das Gewicht der ersteren geht von 520 g bis 835 g und das der letzteren von 530 g bis 810 g. Die Kontrolltiere haben mit Ausnahme von 2 stationär gebliebenen durchschnittlich um 4 % zugenommen; unter den mit Chinin behandelten Tieren befindet sich 1 mit unverändertem

Gewicht, 4 haben nur wenig zugenommen und 4 zeigen eine deutliche Abnahme, welche im Durchschnitt 1,8 % beträgt. Es ist hervorzuheben, daſs auch in diesem Falle die eine Gewichtsabnahme zeigenden Tiere gerade die gröſsten waren.

Untersuchungen 1909.

Diese wurden an zwei Serien Kaninchen ausgeführt, deren eine 24 Kaninchen, die andere 10 Meerschweinchen zählte. Von der ersten Gruppe erhielten 12 durch über 100 Tage eine tägliche Chinininjektion und die anderen 12 dienten zur Kontrolle. Von der zweiten Gruppe wurde die eine Hälfte täglich mit Chinin behandelt und die andere zur Kontrolle gehalten. Die Gewichtsbestimmung erfolgte vor der Behandlung mit Chinin, ferner nach 1 Monat und nach 100 Tagen vom Beginn gerechnet.

Wie bei den früheren Untersuchungen hatte jedes Tier sein ihm bezüglich Alter und Gewicht entsprechendes Kontrolltier; ferner wurde jede Gruppe in drei Untergruppen geteilt, damit das Verhalten der ganz jungen, jungen und ausgewachsenen Tiere abgesondert beobachtet werden konnte, was von gröſster Wichtigkeit ist, wenn die Untersuchung wirklichen Wert besitzen soll.

I. Serie.

Die erste Untergruppe der mit Chinin behandelten Tiere bilden 4 recht junge Kaninchen im Gewichte von 970 g bis 1350 g, die bezügliche Kontrollgruppe 4 Kaninchen die 815 g bis 1280 g wiegen. Nach 100 Tagen haben die Kontrolltiere das ursprüngliche Gewicht durchschnittlich um 39 % überschritten; die mit Chinin behandelten haben ebenfalls, aber nur um 15 % zugenommen.

Die zweite Untergruppe der chininisierten Tiere besteht aus 4 jungen Kaninchen mit von 1510 g bis 1600 g variierendem Gewicht; die 4 Kaninchen der entsprechenden Kontrollgruppe wiegen von 1300 g bis 1550 g. Nach 100 Tagen sind die Kontrolltiere durchschnittlich um 13 % schwerer geworden, während die mit Chinin behandelten ungefähr 5 % von ihrem ursprünglichen Gewicht verloren haben.

In der dritten Untergruppe befinden sich 4 Kaninchen, die von 1610 g bis 2390 g wiegen, die 4 Kontrolltiere sind 1580 g bis 1800 g schwer. Bei diesen ist nach 100 Tagen eine durchschnittliche Zunahme von 9 % zu verzeichnen, während bei den chininisierten eine Abnahme von 3 % stattgefunden hat.

II. Serie.

Die erste Untergruppe der mit Chinin behandelten Tiere bilden 5 Meerschweinchen, deren Gewicht von 215 g bis 425 g geht; die 5 Kontrolltiere

wiegen von 200 g bis 400 g. Nach 100 Tagen haben die Kontrolltiere gegen das Anfangsgewicht um 51 % zugenommen, die mit Chinin behandelten nur um 15 %.

Die zweite Untergruppe besteht ebenfalls aus 5 Meerschweinchen und aus ebenso vielen Kontrolltieren. Das Gewicht der ersteren liegt zwischen 460 g und 600 g und das der letzteren zwischen 520 g und 650 g. Nach 100 Tagen zeigen die Kontrolltiere eine durchschnittliche Zunahme von 10 % gegen das Anfangsgewicht, hingegen die mit Chinin behandelten eine Abnahme von 5 %.

In der dritten Untergruppe befinden sich 5 ausgewachsene Meerschweinchen von 650 g bis 740 g und 5 Kontrolltiere von 650 bis 710 g. Nach 100 Tagen zeigt sich eine Gewichtszunahme von 8 %, während die chininisierten Tiere 8 % ihres Anfangsgewichtes verloren haben.

In den Tabellen I, II, III, IVa finden sich genaue Angaben über jedes einzelne Tier.

II. Blutuntersuchung.

Untersuchungen 1908.

Bei dieser habe ich mich auf die spektroskopische Blutuntersuchung, auf die Zählung der roten Blutkörperchen und auf die Bestimmung des Hämoglobingehaltes beschränkt. Auch hierbei ist die Untersuchung an zwei Tierserien ausgeführt worden, deren eine aus Kaninchen, die andere aus Meerschweinchen bestand. Ich habe das Blut von 15 chininisierten Kaninchen und ebenso vielen Kontrolltieren untersucht und gleichfalls das von 12 chininisierten Meerschweinchen und 12 Kontrolltieren. Bis auf die Chininbehandlung lebten die Kontrolltiere seit drei Monaten in derselben Weise mit Bezug auf Futter und Stallung und waren von gleicher Abkunft.

1. Spektroskopische Untersuchung.

Es besteht kein Unterschied zwischen den durch lange Zeit mit Chinin behandelten und den Kontrolltieren.

2. Anzahl der roten Blutkörperchen.

Die Menge derselben pro 1 ccm Blut ist dieselbe bei den chininisierten wie bei den Kontrolltieren, und zwar ungefähr 5 Millionen bei den Kaninchen und $5^1/_2$ Millionen bei den Meerschweinchen.

3. Hämoglobingehalt.

Dieser erleidet durch die Chininbehandlung keine Veränderung, da er bei den Kaninchen ungefähr 60 und bei den Meerschweinchen 75 beträgt, und zwar sowohl bei den mit Chinin behandelten als bei den Kontrolltieren.

In Tabelle V findet man für jedes Tier die Angaben über die Zahl der roten Blutkörperchen und den Hämoglobingehalt.

III. Bakterientötende Kraft der Lunge.

Untersuchungen 1908.

Bei dieser Untersuchung habe ich mich bis auf einige kleine Abänderungen der meist gebräuchlichen Technik bedient, welche ausführlich in der im hiesigen Institute ausgeführten Arbeit von Ronzani beschrieben ist[1]). Der von mir benutzte Bazillus war der B. prodigiosus. Ich habe nur eine Serie von Untersuchungen an Meerschweinchen ausgeführt, die sich besser dazu eignen, und habe nicht für nötig gehalten, sie zu wiederholen, da ich kein Anzeichen eines Unterschiedes zwischen der bakterientötenden Kraft der Lunge der Kontrolltiere und der mit Chinin behandelten gefunden habe. Auch bei den Tieren, denen ich aus früher erwähnten Gründen ziemlich starke Dosen Chinin injizierte, hielt sich die bakterientötende Kraft der Lunge unverändert. In der Tat betrug nach 8, 20, 44, 60, 72 Inhalationsstunden bei den Kontrolltieren die Anzahl der Kolonien des B. prod. pro ccm Lunge 790, 350, 78, 6, 0; bei den lange Zeit mit Chinin behandelten Tieren 783, 410, 68, 50, und bei den mit verhältnismäfsig starken Dosen injizierten 820, 650, 110, 0, 0. Die auf jedes Tier bezüglichen Details dieser Untersuchungen finden sich in Tabelle VI a.

IV. a) Bakterientötende Kraft des Serums (in vitro). b) Phagozytäres Vermögen des Serums.

Untersuchungen 1909.

a) Bakterientötende Kraft des Serums. — Wie aus dem früheren Berichte hervorgeht, habe ich voriges Jahr die bakterientötende Kraft des Serums nach Pfeiffers Methode untersucht, dagegen habe ich dieses Jahr die Untersuchung in

1) Ronzani E., Azione della polvere di carbone sui microorganismi con speciale riguardo allo sviluppo della tuberculose nei polmoni centracotici. Annali d'Igiene. Roma 1905.

vitro vorgezogen, teils weil sie an nicht künstlich immunisierten Tieren gemacht wurde, teils aus Sparsamkeitsgründen und endlich, um zu sehen, ob sie mit den anderen übereinstimmten, was bei positivem Ergebnis den Wert gehabt hätte, die Wirkung der Chininbehandlung sicherer feststellen zu können.

Die Untersuchung der bakterientötenden Kraft in vitro wurde auf die einfachste Weise ausgeführt, indem man im Probiergläschen $^1/_2$ ccm Serum mit $^1/_2$ ccm einer Typhusbazillenaufschwemmung unter Zugabe von 2 ccm Normallösung vermischte. Diese Mischung wurde bei 37° 1 Stunde im Thermostat belassen und dann mit 200 ccm sterilisiertem Wasser verdünnt. Mit 0,1, 0,2, 0,5 ccm wurden vier Plattenkulturen von jedem Serum gemacht, wobei als künstlicher Nährboden Agar verwendet wurde. In solcher Weise wurde das Blut der chininisierten Tiere und auch der Kontrolltiere untersucht. Da nur die mit derselben Bakterienaufschwemmung erhaltenen Daten zum Vergleich herangezogen werden konnten, so wurden die 2 Serien von 16 Kaninchen und 16 Meerschweinchen geteilt, und zwar jede in 4 Gruppen, von denen 2 aus je 4 chininisierten und 2 aus je 4 Kontrolltieren bestanden.

Jede Untersuchung umfaſst also nur 4 chininisierte und 4 Kontrolltiere von beinahe übereinstimmendem Gewicht.

Überdies wurde bei jeder Untersuchung $^1/_2$ ccm der Bakterienemulsion mit $2^1/_2$ ccm Normallösung gemischt und das Ganze mit 200 ccm sterilisiertem Wasser verdünnt; hiervon wurden 4 Platten mit 0,1, 0,2, 0,5, 1 ccm angefertigt.

Die Anzahl der für 1 ccm berechneten Kolonien entspricht der Zahl der in der Verdünnung enthaltenen Bazillen, während die Zahl der aus der Mischung von Serum und Kultur erhaltenen Kolonien ebenfalls auf 1 ccm berechnet und mit dem vorigen Ergebnis verglichen die bakterientötende Kraft des Serums darstellt.

Der Bequemlichkeit halber gebe ich die auf die letzte Verdünnung bezügliche Zahl statt jener der Bakterienaufschwemmung, die sehr groſs sein würde.

I. Serie. Versuch 1a.

Die Verdünnung der Bakterienaufschwemmung enthält 850 Keime pro ccm.

Die Durchschnittszahl der aus der Mischung der Emulsion mit dem Serum der chininisierten Kaninchen erhaltenen Kolonien beträgt 643, mit dem Serum der Kontrolltiere 671.

Versuch 2a.

Anzahl der Keime in der Verdünnung der Bakterienemulsion 210 pro ccm.

Die Anzahl der Kolonien pro ccm nach Kontakt mit dem Serum der chininisierten Kaninchen ist durchschnittlich 186 und mit dem Serum der Kontrolltiere 175.

II. Serie. Versuch 1a.

Die Keimzahl in der Verdünnung der Bakterienemulsion beträgt 380.

Durchschnittliche Zahl der Kolonien pro ccm nach Kontakt mit dem Serum der chininisierten Meerschweinchen 339, mit dem der Kontrolltiere 310.

Versuch 2a.

Zahl der Keime in der verdünnten Bakterienaufschwemmung 190. Durchschnittliche Anzahl der Kolonien pro ccm nach Kontakt mit dem Serum der chininisierten Meerschweinchen 162 und mit dem Serum der Kontrolltiere 156.

b) Phagozytäre Kraft des Serums. Die Untersuchung der phagozytären Kraft wurde durch Bestimmung der Opsoninen des Serums ausgeführt, manchmal nach der Methode Wright und manchmal nach der Methode Kämmerer und endlich auch durch Ausscheidung der Leukozyten aus dem Bauchfellexsudat. Es versteht sich, dafs die Technik bei den chininisierten Tieren die gleiche war wie bei den zur Kontrolle dienenden.

Diese Untersuchungen wurden an zwei Tierserien durchgeführt, eine bestand aus 24 Kaninchen, von denen 12 mit Chinin behandelt wurden und die anderen zur Kontrolle dienten, die zweite aus 24 Meerschweinchen, von denen ebenfalls die Hälfte chininisiert und die andere Hälfte zur Kontrolle gehalten wurde. Die Bakterienemulsion wurde aus zwölfstündigen Typhuskulturen bereitet. Die erhaltenen Durchschnittswerte sind die folgenden:

I. Serie.

Die durchschnittliche Anzahl der durch Einwirkung des Serums chininisierter Kaninchen von den Leukozyten aufgenommenen Bazillen variiert

in den verschiedenen Tieren von 1,1 zu 3,2 und ist im allgemeinen Durchschnitt 2,1. Die Anzahl der durch Einwirkung des Serums normaler Kaninchen von den Leukozyten aufgenommenen Bazillen variiert von 1,1 zu 3,1 und ist im allgemeinen Durchschnitt 1,9.

II. Serie.

Die Leukozyten nehmen bei Einwirkung des Serums chininisierter Meerschweinchen durchschnittlich eine von 1,4 zu 3,8 variierende Anzahl Keime auf und im allgemeinen Durchschnitt 2,7.

Bei Einwirkung des Serums der Kontrolltiere variiert die Durchschnittszahl der aufgenommenen Bazillen in den verschiedenen Tieren von 1,5 zu 4,7, im allgemeinen Durchschnitt 3,1.

In den Tabellen VIIa und VIIIa sind die vorstehend zusammengefaſsten Daten ausführlich enthalten.

V. Bildung von Antikörpern.

In diesen Untersuchungen im Jahre 1908 habe ich die Agglutinierungskraft des Blutserums der chininisierten und der Kontrolltiere gegenüber dem Typhus studiert und die Immunisierungskraft des Serums durch Beobachtung des Pfeifferschen Phänomens festgestellt; dagegen habe ich 1909 die bakterientötende Kraft in vitro und die phagozytäre Kraft des Serums gegen Typhus immunisierter Tiere untersucht, von denen ein Teil mit Chinin behandelt, der andere nicht chininisiert war.

a) Agglutinationswert des Blutserums von gegen Typhus immunisierten Tieren, hinsichtlich des Typhusbazillus.

Bei dieser Untersuchung bediente ich mich der gewöhnlichen nur gering modifizierten Technik.

Ich unternahm zwei Serien von Untersuchungen an Kaninchen. Jede Serie bestand aus drei Gruppen, eine diente zur Kontrolle, eine wurde von durch längere Zeit mit kleinen Chinindosen injizierten Tieren gebildet und die letzte von mehrmals gleich nach jeder Toxininfektion mit ziemlich starken Dosen behandelten Tieren.

Jede Gruppe der ersten Serie umfaſste 6 Tiere, die der zweiten 5.

Der mittlere Agglutinationswert war bei den Kontrolltieren 1 : 980 in der ersten Serie und 1 : 920 in der zweiten; bei den durch längere Zeit mit kleinen Chinindosen behandelten Tieren 1 : 1050 in der ersten Serie und 1 : 1025 in der zweiten; ein Tier dieser Gruppe verendete nach der zweiten Toxininfektion. Jene Tiere, welche während der Immunisierung ziemlich starke Chinindosen erhalten hatten, zeigten eine viel geringere Widerstandskraft gegen das Typhusgift als die Kontrolltiere, denen die gleiche Menge injiziert worden war, so daſs von den 6 Kaninchen der ersten Serie nur zwei am Leben blieben, deren Serum einen Agglutinationswert von 1 : 800 und 1 : 1100 aufwies. Von den 5 Tieren der zweiten Serie kam nur eines mit dem Leben davon, dessen Serum einen Agglutinationswert von 1 : 1750 besaſs.

b) Immunisierungskraft des Serums der gegen Typhus immunisierten Tiere, bestimmt mittels des Pfeifferschen Phänomens.

Die Untersuchung wurde auf nur eine Serie beschränkt, die aus 10 Kontrolltieren und 10 durch längere Zeit mit kleinen Chinindosen injizierten Meerschweinchen bestand. Das geschah, weil die Proben mit jedem Serum eine groſse Anzahl Tiere erfordern, selbst wenn man sich auf die geringste Zahl von 3 für jedes Serum einschränkt, wie ich es tat.

Die Kontrolltiere gaben vergleichsweise ein Serum von nachstehendem Wert:

$> 0{,}10$, $> 0{,}50$, $< 0{,}30 - > 0{,}50$, $> 0{,}10$, $< 0{,}30 - > 0{,}50$, $> 0{,}10$, $< 0{,}10 - > 0{,}30$, $< 0{,}10 - > 0{,}30$, $> 0{,}10$, $> 0{,}10$.

Die chininisierten Tiere ergaben die folgenden Werte:

$< 0{,}30 - > 0{,}50$, $< 0{,}10 - > 0{,}30$, $> 0{,}50$, $> 0{,}50$, $< 0{,}10 - > 0{,}30$, $> 0{,}10$, $< 0{,}10 - > 0{,}30$, $> 0{,}50$, $> 0{,}50$, $< 0{,}30 - > 0{,}50$.

c) Bakterientötende Kraft und phagozytäres Vermögen des Serums der gegen Typhus immunisierten Tiere.

a) Bakterientötende Kraft. Die angewandte Technik war die gleiche wie bei der vorhergehenden Untersuchung. Nur bei zwei Versuchen bediente ich mich der Methode von Stern

und Korte. Ich benutzte, wie gewöhnlich, zwei Serien Tiere, eine von 16 Kaninchen und eine von 16 Meerschweinchen, von denen jedesmal die Hälfte als Kontrolltiere dienten. Jede Untersuchung umfafst 4 chininisierte und 4 Kontrolltiere. Die Immunisierung geschah durch Injektion von Typhusgift in dem Gewicht entsprechender Menge.

I. Serie. Versuch 1a.

Zahl der Keime in der verdünnten Bakterienaufschwemmung: 375 pro ccm. Durchschnittszahl der Kolonien pro ccm nach Einwirken des Serums der mit Chinin behandelten und immunisierten Tiere: 265; nach Einwirken des Serums von einfach immunisierten Kaninchen: 171 pro ccm.

Versuch 2a.

Durchschnittszahl der Keime in der Verdünnung der Bakterienaufschwemmung 375 pro ccm. Durchschnittliche Menge der Kolonien pro ccm nach Einwirken des Serums von chininisierten und immunisierten Kaninchen 346; nach Einwirken des Serums der einfach immunisierten Kontrolltiere: 217 pro ccm.

II. Serie. Versuch 1a.

Anzahl der Keime in der Verdünnung der Bakterienaufschwemmung 350 pro ccm. Nach Einwirken des Serums der chininisierten und immunisierten Meerschweinchen beträgt die Anzahl der Keime 202 pro ccm; nach Kontakt mit dem Serum der nur immunisierten Meerschweinchen finden sich 111 Keime pro ccm.

Versuch 2a.

Anzahl der Keime in der verdünnten Bakterienaufschwemmung 235; diese Zahl sinkt nach dem Kontakt mit dem Serum der chininisierten und immunisierten Meerschweinchen auf 190; bei Kontakt mit dem Serum von nur immunisierten Meerschweinchen auf 157.

b) Phagozytäres Vermögen des Serums. Diese Untersuchungen wurden mit derselben Technik wie die vorhergehenden ausgeführt, und aufser dem phagozytären Vermögen des Serums von chininisierten und gegen Typhus immunisierten Tieren und jenem der ebenfalls immunisierten Kontrolltiere wurde dasselbe auch von einer gleichen Zahl nicht injizierter Tiere bestimmt, um durch das gegenseitige Verhalten des phagozytären Vermögens den Opsoninenindex festzustellen.

Wie gewöhnlich werden zwei Tierserien untersucht, die in vier Gruppen geteilt sind, von denen jede 16 Tiere enthält, 8 chininisierte und 8 zur Kontrolle dienende. In jeder Serie der nicht injizierten Tiere befinden sich ebenfalls 8.

I. Serie. Untersuchung 1 a.

Bei den nicht injizierten Tieren geht das phagozytäre Vermögen eines jeden durchschnittlich von 1,2 zu 2,3, mit dem allgemeinen Durchschnitt von 1,6. Bei den chininisierten und gegen Typhus immunisierten Tieren geht das phagozytäre Vermögen eines jeden Tieres von 1,2 bis 3,4, mit dem allgemeinen Durchschnitt von 2,4, daher ist der Opsoninenindex im Mittel 1,5; bei den nur gegen Typhus immunisierten Kontrollkaninchen geht das phagozytäre Vermögen bei jedem Tiere von 3,5 bis 5,8, mit dem Gesamtdurchschnitt von 4,3, daher beträgt der Opsoninenindex im Mittel 2,6.

Untersuchung 2 a.

Bei den nicht injizierten Kaninchen geht das phagozytäre Vermögen eines jeden von 1,9 zu 3,3, mit dem Gesamtdurchschnitt von 2,5. Bei den chininisierten und gegen Typhus immunisierten Kaninchen geht das phagozytäre Vermögen eines jeden Tieres durchschnittlich von 2,4 bis 4,3, im Gesamtdurchschnitt beträgt es 3,5, daher ist der durchschnittliche Opsoninenindex 1,4; bei den einfach gegen Typhus immunisierten Kontrolltieren geht das phagozytäre Vermögen eines jeden durchschnittlich von 4,3 zu 7,2, im Gesamtdurchschnitt 5,8, daher der Opsoninenindex 2,3 beträgt.

II. Serie. Untersuchung 1 a.

Bei den nicht injizierten Meerschweinchen geht das durchschnittliche phagozytäre Vermögen eines jeden von 1,8 zu 4,3, mit dem Gesamtdurchschnitt von 2,8. Bei den chininisierten und gegen Typhus immunisierten Meerschweinchen geht es bei jedem Tier von 1,9 zu 4,1, mit einem Gesamtdurchschnitt von 3.3, daher der durchschnittliche Opsonienindex 1,1 beträgt; bei den nur gegen Typhus immunisierten Kontrolltieren geht das durchschnittliche phagozytäre Vermögen eines jeden von 5,5 zu 6,1, mit dem Gesamtdurchschnitt von 5,5, daher der mittlere Opsoninenindex 1,9 beträgt.

Untersuchung 2 a.

Bei den nicht injizierten Meerschweinchen geht das phagozytäre Vermögen eines jeden durchschnittlich von 2,5 bis 4,8, im Gesamtdurchschnitt 3,2. Bei den chininisierten und gegen Typhus immunisierten Meerschweinchen geht das phagozytäre Vermögen eines jeden von 3,2 zu 4,9, im allgemeinen Mittel von 4,3, der Opsoninenindex ist daher 1,3; bei den nur immunisierten Tieren geht das phagozytäre Vermögen eines jeden von 4,9 zu 7,2, im Gesamtdurchschnitt 6,1, daher beträgt der Opsoninenindex 1,9.

In den Tabellen IX—XII finden sich alle Einzelheiten über die vorstehenden Untersuchungen.

VI. Verhalten der gegenüber kräftigem Virus empfindlichen Tiere.

a) Milzbrand.

Ich benutzte, da zweckentsprechender, Kulturen von mittelstarker Virulenz; es wurden zwei Versuchsserien gemacht, die erste in drei Gruppen, aus je 6 Kaninchen bestehend, von denen eine zur Kontrolle diente, die andere aus durch längere Zeit mit geringen Chinindosen injizierten Tieren und die dritte aus mit verhältnismäfsig starken Chinindosen unmittelbar vor und während der Infektion behandelten Tieren bestand.

Die zweite, 12 Meerschweinchen zählende Serie war in analoge Gruppen von je 4 Tieren geteilt.

I. Serie.

Von den zur Kontrolle dienenden Kaninchen bleiben 3 am Leben, die anderen 3 verenden nach 76, 79, 92 Stunden. Die durch lange Zeit mit kleinen Dosen chininisierten Tiere sterben alle nach 26, 35, 36, 46, 53 54 Stunden. Die der dritten Gruppe verenden ebenfalls alle nach 24, 51, 68, 72, 82, 101 Stunden.

II. Serie.

Die zur Kontrolle dienenden Meerschweinchen verenden nach 37, 61, 63, 71 Stunden; die längere Zeit mit geringeren Dosen chininisierten Tiere nach 34, 37, 47, 53 Stunden und die unmittelbar vor und während der Infektion chininisierten nach 39, 41, 42, 61.

b) Diplococcus Fränkel.

Die Impfungen wurden endovenös gemacht und der Tod trat stets infolge von Septikämie ein. Die Untersuchung erstreckte sich auf nur eine Serie von 18 Kaninchen, wie gewöhnlich in drei Gruppen geteilt, die erste zur Kontrolle dienend, die zweite aus mit geringen Dosen chininisierten Tieren und die dritte aus mit starken Dosen unmittelbar vor und während der Infektion injizierten Tieren bestehend. Von der ersten Gruppe bleiben 3 am Leben und 3 sterben nach 23, 39, 41 Stunden. Von der

zweiten Gruppe verenden alle nach 12, 14, 15, 20, 25, 29 Stunden. Von der dritten Gruppe bleibt eines am Leben und die anderen verenden nach 18, 35, 38, 74, 80 Stunden.

c) **Typhus**.

Die Impfung wurde peritoneal mit Bazillen gemacht, die von Kulturen mittlerer Virulenz stammten; die Tiere verendeten an Bauchfellentzündung, doch konnte ich mehrfach Bazillen im Blute finden. Die Untersuchung erstreckte sich auf zwei Serien, deren eine aus 18 Kaninchen, die andere aus 12 Meerschweinchen bestand, welche, wie bei der vorhergehenden Untersuchung, in drei Gruppen eingeteilt waren.

I. Serie.

Von der ersten Gruppe bleiben 2 Kaninchen am Leben, 4 verenden nach 40, 46, 49, 75 Stunden; die Tiere der zweiten Gruppe sterben alle nach 16, 21, 22, 31, 36, 40 Stunden und desgleichen die der dritten nach 31, 35, 40, 42, 46 Stunden.

II. Serie.

Von der ersten Gruppe Meerschweinchen bleibt 1 am Leben und 3 verenden nach 40, 41, 66 Stunden; von der zweiten sterben alle nach 14, 20, 26, 32 Stunden und von der dritten gleichfalls alle nach 27, 28, 42, 52 Stunden.

d) **Cholera.**

Es wurden zwei Serien von Untersuchungen ausgeführt, die erste an 18 Kaninchen und die zweite an 15 Meerschweinchen. Wie gewöhnlich war jede Serie in drei Gruppen geteilt, die erste diente zur Kontrolle, die zweite war durch längere Zeit mit geringen Chinindosen und die letzte unmittelbar vor und während der Infektion mit gröſseren Dosen behandelt worden. Die Impfung erfolgte endovenös bei den Kaninchen, endoperitoneal bei den Meerschweinchen. Bei den ersteren konnte ich nach dem Verenden mehrfach den Choleravibrion im Blute auffinden.

I. Serie.

Von den Tieren der ersten Gruppe bleiben 2 am Leben, die übrigen sterben nach 16, 22, 40, 48 Stunden. Die der zweiten Gruppe verenden alle

nach 10, 18, 20, 24, 30, 36 Stunden und die der dritten gleichfalls alle nach 28, 28, 32, 34, 40, 60 Stunden.

II. Serie.

Von den Meerschweinchen der ersten Gruppe bleiben 2 am Leben und 3 verenden nach 34, 42, 60 Stunden. Die der zweiten sterben nach 12, 18, 24, 29 Stunden. Von den Tieren der dritten Gruppe bleibt 1 am Leben, die übrigen 4 verenden nach 28, 28, 32, 45 Stunden.

In der Tabelle XIIIa finden sich die genauen Angaben über jedes einzelne Tier.

VII. a) Bakterientötende Kraft des Serums und b) Phagozytäres Vermögen des Serums bei mit Chinin behandelten Menschen.

Diese Untersuchung wurde, wie bereits erwähnt, durch 100 Tage an 12 mit Chinin behandelten Soldaten und an 9 zur Kontrolle dienenden durchgeführt.

Zur Untersuchung des Blutserums wurden drei Gruppen von je 4 chininisierten und je 3 zur Kontrolle dienenden Individuen gebildet, da ich an einem Tage die Untersuchung nicht auf mehr ausdehnen konnte. Es beziehen sich also die Resultate nur auf die am selben Tage chininisierten und kontrollierten Individuen.

a) Bakterientötende Kraft des Serums.

Unter Anwendung der schon beschriebenen Technik erhielt ich folgende Resultate:

Untersuchung 1a.

Die Keimzahl in der verdünnten Bakterienaufschwemmung beträgt 275. Nach Kontakt mit dem Blutserum beträgt sie bei den chininisierten Individuen 160, 147, 180, 185, im Durchschnitt 168; bei den Kontrollpersonen 160, 187, 170, im Mittel 172.

Untersuchung 2a.

Die Keimzahl in der verdünnten Bakterienaufschwemmung beträgt 325. Sie sinkt auf 255, 295, 217, 257 nach Einwirken des Serums der 4 chininisierten Personen und beträgt im Durchschnitt 256; bei den Kontrollpersonen 225, 220, 220 mit einem Durchschnitt von 221.

Untersuchung 3 a.

Die Keimzahl in der verdünnten Bakterienaufschwemmung beträgt 280. Nach Einwirkung des Blutserums der 4 chininisierten Individuen zeigen sich 170, 195, 180, 165, im Mittel 175, während bei der Probe mit dem zur Kontrolle dienenden Serum 212, 180, 180, im Durchschnitt 190 gezählt werden.

b) Phagozytäres Vermögen des Serums.

Auch diese Untersuchung erfolgte nach der bereits beschriebenen Methode.

Untersuchung 1 a.

Im Serum der 4 chininisierten Individuen ist das phagozytäre Vermögen 4,8, 2,6, 4,8, 3,9, im Durchschnitt 4; bei den 3 Kontrollpersonen ist es 3,2, 4,1, 3,8; im Durchschnitt 3,7.

Untersuchung 2 a.

Bei den 4 chininisierten Individuen beträgt das phagozytäre Vermögen 5,3, 5,6, 3,2, 4,3; im Durchschnitt 4,6; bei den 3 Kontrollpersonen ist es 6,1, 4,2, 4,8, im Durchschnitt 5.

Untersuchung 3 a.

Bei den 4 chininisierten Individuen ist das phagozytäre Vermögen 4,8, 3,2, 1,8, 4,2, mit einem Durchschnitt von 3,5; bei den 3 Kontrollpersonen 2,1, 4,3, 3,1, im Durchschnitt 3,1.

Die Einzelheiten dieser Untersuchungen finden sich in den Tabellen XIV und XV.

Schlufsfolgerungen.

I. Die an zwei Tierserien (Kaninchen und Meerschweinchen) durch ungefähr 100 Tage fortgesetzten Injektionen von Chin. hydrochloricum in Gaben von 0,005 g pro kg Tiergewicht verursachen bei den ganz jungen Tieren eine mindere Gewichtszunahme als bei den Kontrolltieren und bei den jungen und den erwachsenen Tieren eine Abnahme des ursprünglichen Gewichts, während die Kontrolltiere beträchtlich zunehmen.

II. Infolge der vorerwähnten Behandlung findet sich keinerlei Veränderung im Blute bei der spektroskopischen Untersuchung, sei es bezüglich der Anzahl der roten Blutkörperchen, sei es bezüglich des Hämoglobingehaltes.

III. Es konnte bezüglich der bakterientötenden Kraft der Lunge kein Unterschied zwischen den chininisierten und den Kontrolltieren nachgewiesen werden.

IV. a) Die bakterizide Kraft des Serums gegenüber dem Typhusbazillus von durch längere Zeit mit Chinin behandelten Tieren zeigt keinen Unterschied, verglichen mit dem der normalen Kontrolltiere.

b) Das vermittelst des Opsoninengehalts studierte phagozytäre Vermögen des Blutserums der in erwähnter Weise chininisierten Tiere unterscheidet sich in nichts von jenem der Kontrolltiere.

V. a) Als Folge der erwähnten Chininbehandlung zeigt sich gegenüber dem Typhusbazillus kein Unterschied bezüglich Erzeugung agglutinierender Substanzen zwischen den injizierten und den Kontrolltieren.

b) Was den Immunisierungswert des Serums gegenüber dem Typhusbazillus betrifft, der durch das Pfeiffersche Phänomen. bestimmt wurde, ist erwiesen, dafs die chininisierten Tiere unter denselben Lebensbedingungen ein beträchtlich minderwertigeres Serum als die Kontrolltiere produzieren.

c) Die bakterientötende Kraft des Serums gegenüber dem Typhusbazillus von durch längere Zeit chininisierten und dann gegen Typhus immunisierten Tiere ist geringer als jene der nicht chininisierten Kontrolltiere.

Der aus Typhusbazillenaufschwemmung erhobene Opsoninenindex des Serums chininisierter und gegen Typhus immunisierter Tiere ist geringer als der von gegen Typhus immunisierten, aber nicht chininisierten Tieren, wenngleich bei den chininisierten Tieren das phagozytäre Vermögen gegenüber den Typhusbazillen etwas gröfser ist als bei frischen Tieren.

Bei den gegen Typhus immunisierten Tieren ist das zur Bestimmung des Opsoninengehaltes erforschte phagozytäre Vermögen gröfser als bei frischen Tieren, sowohl bei einfacher Immunisierung als auch bei solcher nach erfolgter Chininbehandlung, doch ist es in diesem letzteren Falle beinahe um die Hälfte geringer als bei einfach immunisierten Tieren.

VI. Die durch längere Zeit mit geringen Dosen chininisierten Tiere besitzen eine viel geringere Widerstandskraft gegen virulente Virus als die Kontrolltiere, und zwar sowohl gegen Infektion durch Milzbrand als gegen Typhus, gegen Pneumokokken und gegen Cholera.

VII. Injektionen von Chininhydrochlorid in Dosen von 0,025 g per kg Tiergewicht, die am Tage vor den Versuchen begonnen und während diesen fortgesetzt werden, bewirken keine Veränderung der Blutmischung und haben keine Wirkung auf die bakterizide Kraft der Lunge. Dafür sind derartig chininisierte Tiere wenig widerstandsfähig gegen zu Immunisierungszwecken injizierte Typhustoxine, die von den Kontrolltieren unschwer ertragen werden. Aufserdem verschlimmert bei den Tieren die Behandlung mit Chinin den Verlauf der Infektion, wenn auch nicht in dem Mafse wie die langdauernde Chininisierung.

VIII. a) Das Blutserum von lange Zeit mit Chinin behandelten Menschen hat gegenüber dem Typhus keine vom Serum nicht chininisierter und in gleichen Verhältnissen lebender Individuen verschiedene bakterientötende Kraft gezeigt.

b) Das Blutserum von durch längere Zeit mit Chinin behandelten Menschen hat gegenüber dem Typhusbazillus keinen anderen Opsoninengehalt und daher kein anderes phagozytäres Vermögen gezeigt, als das von in gleichen Verhältnissen lebenden, nicht mit Chinin behandelten Personen[1]).

[1]) Während diesen Untersuchungen, und zwar im Juli 1909 (9 Monate nach Veröffentlichung meiner ersten vorläufigen Mitteilung vom Oktober 1908 und 3 Monate vor meiner zweiten Mitteilung vom Oktober 1909), ist von Dr. Casoni in Sassari in der Gazzetta Internazionale di Medicina vom 11. Juli 1909 eine der meinen ähnliche Arbeit erschienen, aus der aber hervorgeht, dafs den Kaninchen das Chinin auf dem Darmwege beigebracht wurde. Ein Teil seiner Angaben und besonders jener über die Gewichtszunahme der Tiere und ihr Verhalten gegenüber der Infektion mit pathogenen Bazillen stimmt mit den meinen nicht überein. In meiner zweiten Veröffentlichung, wo ich auf eine gegen mich gerichtete Polemik antwortete, glaubte ich die Ursache dieser Verschiedenheit der Resultate hauptsächlich durch die von ihm gewählte Art der Chininverabreichung und durch andere Umstände, unter denen seine Arbeit ausgeführt wurde, erklären zu können.

Wenn also aus vorstehenden Untersuchungen hervorgeht, daſs die durch längere Zeit fortgesetzte Verabreichung kleiner Dosen Chinin auf die Entwicklung des Organismus junger Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) ungünstig einwirkt und auch auf die Erhaltung der Gesundheit erwachsener Tiere keinen vorteilhaften Einfluſs übt, wenn ferner eine derartige Chininbehandlung keine bemerkenswerte Wirkung, weder aufs Blut noch auf die bakterientötende Kraft der Lunge, hinsichtlich des natürlichen bakteriziden und phagozytären Vermögens des Blutserums hat und ebensowenig ein Unterschied in der Erzeugung der agglutinierenden Substanz ersichtlich wird, so ist anderseits bei den eigens mit dem Serum behandelten Tieren durch das Pfeiffersche Phänomen, dann durch das Studium des bakteriziden Vermögens in vitro oder durch Bestimmung des phagozitären Vermögens und des Opsoninenindexes ein geringeres Immunisierungsvermögen des Serums nachgewiesen. Das wird von vornherein durch eine geringere Widerstandskraft der chininisierten Tiere gegen ansteckende Krankheiten bewiesen, wie es aus den Beobachtungen an solchen Tieren bei Infektion mit virulentem Virus, wie Milzbrand, Typhus, Pneumokokken, Cholera, hervorgeht. Dies ist wenigstens bei Tieren der Fall, und es kann nicht ausgeschlossen werden, daſs etwas Ähnliches beim Menschen sich ereignen könnte, da keinerlei Unterschied zwischen dem bakteriziden und phagozytären Verhalten des Blutserums der chininisierten und der Kontrollpersonen gefunden wurde und dieses Resultat genau mit dem der chininisierten aber nicht künstlich immunisierten Tiere übereinstimmt. Und wenn es bedauerlich ist, daſs ich nicht auch auf Menschen die Untersuchung durch Immunisierung mit Typhustoxinen nach Behandlung mit Chinin ausdehnen konnte, weil das nicht möglich und auch inhuman gewesen wäre, so läſst doch die Übereinstimmung der vorgenannten Resultate bezüglich der Untersuchungen an Tieren und am Menschen vermuten, daſs auch beim immunisierten Menschen das Resultat mit groſser Wahrscheinlichkeit dem bei den Tieren erhaltenen analog sein würde.

Wenn man die in dieser Arbeit niedergelegten Resultate erwägt und die durch die Untersuchungen Gabbis und seiner Schüler klargelegte Wirkung kleiner, durch 5 oder 6 Monate fortgesetzter Chiningaben auf das Menschenblut im Auge behält, wenn man sich ferner der bereits bekannten pharmakologischen Wirkung des Chinins erinnert, so sieht man, welche Berechtigung die Worte hatten, welche Prof. Serafini über die Prophylaxis der Malaria durch Chinin in seinem Bericht über die Malaria im venezianischen Gebiete im Jahre 1902 schrieb, die ich anfangs als Ausgangspunkt meiner Arbeit erwähnte und hier als allgemeine und praktische Schlufsfolgerung derselben wiederhole:

»Die Hygiene kann und darf nur vorübergehend eine Prophylaxis zum Ziele haben, die auf der Einführung von Arzneien in den Organismus beruht, durch welche, wenn auch in geringem Mafse, ein anormaler, nicht physiologischer Zustand hervorgerufen wird.«

Tabelle I.

Übersicht der Gewichtszunahme. I. Serie — Kaninchen.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

	Kontrolltiere						Chininisierte Tiere					
	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 75 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 75 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme
Ganz junge Kaninchen	1	605	800	1010	+ 405		1 bis	600	800	950	+ 350	
	2	700	780	900	+ 200		2 »	670	800	870	+ 200	
	3	700	850	1050	+ 350		3 »	760	900	1050	+ 290	
	4	800	1000	1200	+ 400		4 »	850	965	1000	+ 150	
	5	805	1060	1050	+ 245		5 »	780	835	660		— 120
	6	830	900	1100	+ 270		6 »	840	1020	1100	+ 260	
	7	845	960	1200	+ 355		7 »	850	890	870	+ 20	
	8	875	1060	1290	+ 415		8 »	870	1120	1020	+ 150	
	9	905	985	1010	+ 105		9 »	1020	1225	1190	+ 170	
	10	930	1060	1190	+ 260		10 »	910	1070	1065	+ 155	
	11	935	1010	1200	+ 265		11 »	1000	1050	1200	+ 200	
	12	955	1300	1450	+ 495		12 »	960	1030	1275	+ 315	
Durchschnittl. Gewichtszunahme 38 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 21 %.					
Junge Kaninchen	13	1000	1095	1300	+ 300		13 bis	1040	1150	1250	+ 210	
	14	1100	1450	1480	+ 380		14 »	1090	1260	1020		— 70
	15	1075	1070	1170	+ 95		15 »	1050	1270	1180	+ 130	
	16	1120	1180	1350	+ 230		16 »	1100	1210	1320	+ 220	
	17	1120	1280	1370	+ 250		17 »	1060	1085	1160	+ 100	
	18	1130	1125	1230	+ 100		18 »	1195	1315	1340	+ 145	
	19	1150	1200	1325	+ 175		19 »	1145	1200	1270	+ 125	
	20	1150	1220	1320	+ 170		20 »	1090	1230	1280	+ 190	
	21	1240	1200	1270	+ 30		21 »	1250	1400	1300	+ 50	
	22	1250	1380	1340	+ 90		22 »	1250	1370	1250	—	
	23	1290	1330	1320	+ 30		23 »	1330	1600	1550	+ 220	
	24	1400	1400	1450	+ 50		24 »	1365	1265	1250		— 115
	25	1400	1480	1535	+ 135		25 »	1300	1380	1370	+ 70	
	26	1445	1520	1560	+ 115		26 »	1425	1580	1600	+ 175	
	27	1470	1465	1680	+ 210		27 »	1480	1465	1380		— 100
Durchschnittl. Gewichtszunahme 12 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 7 %.					
Ausgewachsene Kaninchen	28	1500	1520	1510	+ 10		28 bis	1430	1500	1550	+ 120	
	29	1530	1560	1530	—		29 »	1515	1600	1680	+ 165	
	30	1555	1620	1630	+ 75		30 »	1570	1780	1790	+ 220	
	31	1595	1730	1700	+ 105		31 »	1600	1710	1680	+ 80	
	32	1620	1820	1895	+ 275		32 »	1615	1540	1590		— 25
	33	1635	1680	1820	+ 185		33 »	1820	1735	1775		— 45
	34	1710	1680	1850	+ 140		34 »	1950	1970	1820		— 130
	35	1850	1830	1870	+ 20		35 »	1770	1660	1700		— 70
Durchschnittl. Gewichtszunahme 6 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 2 %.					

Tabelle II.

Übersicht der Gewichtszunahme. II. Serie — Meerschweinchen.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

	Kontrolltiere						Chininisierte Tiere					
	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 75 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 75 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme
Ganz junge Meerschweinchen	1	70	140	230	+ 160		1 bis	75	120	200	+ 125	
	2	75	155	220	+ 145		2 ›	70	110	180	+ 110	
	3	85	160	230	+ 145		3 ›	85	160	230	+ 145	
	4	85	185	265	+ 180		4 ›	85	170	230	+ 145	
	5	95	170	280	+ 185		5 ›	95	175	250	+ 155	
	6	95	200	270	+ 175		6 ›	85	150	230	+ 145	
	7	140	200	280	+ 140		7 ›	155	245	275	+ 120	
	8	170	275	350	+ 180		8 ›	220	275	295	+ 75	
	9	180	250	305	+ 125		9 ›	180	250	300	+ 120	
	10	190	305	390	+ 200		10 ›	200	325	400	+ 200	
	11	225	310	380	+ 155		11 ›	225	340	400	+ 175	
	12	240	330	410	+ 170		12 ›	240	360	400	+ 160	
	13	275	360	450	+ 175		13 ›	260	355	390	+ 130	
	14	280	380	435	+ 155		14 ›	280	350	400	+ 120	
	15	285	445	410	+ 125		15 ›	310	380	390	+ 80	
	16	300	420	510	+ 210		16 ›	320	420	465	+ 145	
Durchschnittl. Gewichtszunahme 94 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 74 %.					
Junge Meerschweinchen	17	320	440	470	+ 150		17 bis	310	420	440	+ 130	
	18	340	430	490	+ 150		18 ›	360	450	460	+ 100	
	19	345	460	480	+ 135		19 ›	390	435	445	+ 55	
	20	450	510	580	+ 130		20 ›	445	485	470	+ 25	
	21	455	525	530	+ 75		21 ›	450	560	560	+ 110	
	22	470	460	470	—		22 ›	475	500	495	+ 20	
	23	485	485	500	+ 15		23 ›	485	550	510	+ 25	
	24	495	585	600	+ 105		24 ›	490	510	460		— 30
Durchschnittl. Gewichtszunahme 22 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 12 %.					
Ausgewachsene Meerschweinchen	25	530	600	540	+ 10		25 bis	520	555	520	—	
	26	535	635	650	+ 115		26 ›	475	545	565	+ 90	
	27	560	580	600	+ 40		27 ›	605	635	620	+ 15	
	28	640	650	650	+ 10		28 ›	635	690	640	+ 5	
	29	670	615	670	—		29 ›	640	680	610		— 30
	30	690	700	780	+ 90		30 ›	690	760	715	+ 25	
	31	695	710	700	+ 5		31 ›	700	680	610		— 90
	32	740	735	750	+ 10		32 ›	700	680	660		— 40
	33	810	820	810	—		33 ›	835	845	750		— 85
Durchschnittl. Gewichtszunahme 4 %.							Durchschnittliche Gewichtsabnahme — 1,8 %.					

Tabelle III.

Übersicht der Gewichtszunahme. I. Serie — Kaninchen.

(Untersuchungen im Jahre 1909.)

	Kontrolltiere						Chininisierte Tiere					
	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 100 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme	Nr.	Anfangsgewicht in g	Gewicht nach 30 Tagen	Gewicht nach 100 Tagen	Gewichtsdifferenz der Zunahme	Gewichtsdifferenz der Abnahme
Ganz junge Kaninchen	1	815	1000	1360	+ 445		1 bis	970	1150	1250	+ 280	
	2	960	1350	1400	+ 440		2 ›	1080	1120	1350	+ 270	
	3	980	1200	1350	+ 370		3 ›	1350	1400	1420	+ 70	
	4	1280	1415	1505	+ 325		4 ›	1350	1400	1450	+ 100	
Durchschnittl. Gewichtszunahme 39 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 15 %.					
Junge Kaninchen	5	1300	1580	1505	+ 265		5 bis	1510	1530	1600	+ 90	
	6	1410	1530	1560	+ 150		6 ›	1580	1540	1200		— 380
	7	1355	1400	1575	+ 220		7 ›	1590	1650	1580		— 10
	8	1550	1630	1680	+ 130		8 ›	1600	1690	1550		— 50
Durchschnittl. Gewichtszunahme 13 %.							Durchschnittl. Gewichtszunahme 5 %.					
Ausgewachsene Kaninchen	9	1580	1640	1720	+ 140		9 bis	1610	1615	1650	+ 40	
	10	1600	1675	1720	+ 120		10 ›	1670	1660	1600		— 70
	11	1610	1800	1950	+ 340		11 ›	1870	1860	1800		— 70
	12	1800	1815	1850	+ 50		12 ›	2390	2300	2200		— 190
Durchschnittl. Gewichtszunahme 9 %.							Durchschn. Gewichtsabnahme 3 %.					

Tabelle IV.

II. Serie — Meerschweinchen.

Ganz junge Meerschweinchen	1	200	280	300	+ 100		1 bis	215	280	315	+ 100	
	2	245	380	425	+ 180		2 ›	240	360	380	+ 140	
	3	270	422	450	+ 180		3 ›	365	412	400	+ 35	
	4	350	500	570	+ 220		4 ›	420	475	420	—	
	5	400	530	570	+ 170		5 ›	425	490	410		— 15
Durchschnittl. Gewichtszunahme 51 %.							Durchschnittl. Gewichtsabnahme 5 %.					
Junge Meerschweinchen	6	520	560	615	+ 95		6 bis	460	486	440		— 20
	7	550	585	560	+ 10		7 ›	465	495	485	+ 20	
	8	600	660	715	+ 115		8 ›	580	570	590	+ 10	
	9	600	670	680	+ 80		9 ›	585	572	485		— 100
	10	650	615	660	+ 10		10 ›	600	655	555		— 45
Durchschnittl. Gewichtszunahme 10 %.							Durchschnittl. Gewichtsabnahme 5 %.					
Ausgewachs. Meerschweinchen	11	650	680	715	+ 65		11 bis	650	650	565		— 85
	12	670	614	750	+ 80		12 ›	700	710	680		— 20
	13	700	720	730	+ 30		13 ›	720	725	585		— 135
	14	700	720	785	+ 85		14 ›	725	700	710		— 15
	15	710	722	735	+ 25		15 ›	740	720	700		— 40
Durchschnittl. Gewichtszunahme 8 %.							Durchschnittl. Gewichtsabnahme 8 %.					

Tabelle V.

Blutuntersuchung. I. Serie — Kaninchen.

(Untersuchung im Jahre 1908.)

Kontrolltiere				Chininisierte Tiere			
Nr.	Gewicht in g	Hämoglobingehalt	Zahl der roten Blutkörperchen	Nr	Gewicht in g	Hämoglobingehalt	Zahl der roten Blutkörperchen
1	1010	60	4 500 000	1 bis	1000	45	5 600 000
2	1100	35	5 800 000	2 ›	1050	65	5 600 000
3	1130	45	4 000 000	3 ›	1190	35	4 800 000
4	1290	65	6 400 000	4 ›	1270	55	6 400 000
5	1300	60	5 600 000	5 ›	1315	60	5 000 000
6	1300	45	5 200 000	6 ›	1350	60	4 400 000
7	1570	65	7 000 000	7 ›	1460	65	4 400 000
8	1670	50	6 000 000	8 ›	1700	45	4 600 000
9	1680	65	4 400 000	9 ›	1625	60	5 200 000
10	1825	70	4 400 000	10 ›	1690	70	4 000 000
11	1850	75	4 600 000	11 ›	1820	60	6 000 000
12	1870	60	5 600 000	12 ›	1775	50	4 800 000
13	1890	65	3 760 000	13 ›	1790	70	5 600 000
14	1895	70	4 000 000	14 ›	1880	75	5 600 000
15	1940	60	5 200 000	15 ›	2000	75	4 400 000
	Mittel	59	5 090 000		Mittel	59	5 090 000

II. Serie — Meerschweinchen.

Kontrolltiere				Chininisierte Tiere			
Nr.	Gewicht in g	Hämoglobingehalt	Zahl der roten Blutkörperchen	Nr	Gewicht in g	Hämoglobingehalt	Zahl der roten Blutkörperchen
1	310	75	3 200 000	1 bis	280	55	5 600 000
2	320	70	5 600 000	2 ›	390	80	5 400 000
3	410	70	5 600 000	3 ›	400	80	6 000 000
4	420	45	6 000 000	4 ›	400	75	4 800 000
5	460	80	4 000 000	5 ›	410	70	6 000 000
6	470	85	6 000 000	6 ›	435	85	4 000 000
7	470	50	5 200 000	7 ›	445	80	4 800 000
8	500	80	6 000 000	8 ›	480	70	6 400 000
9	510	75	5 600 000	9 ›	495	75	5 200 000
10	540	85	6 000 000	10 ›	535	65	4 500 000
11	600	95	5 600 000	11 ›	560	70	6 800 000
12	700	65	3 200 000	12 ›	715	80	6 800 000
	Mittel	72	5 100 000		Mittel	73	5 550 000

Tabelle VI.

Bakterizide Kraft der Lunge. Einzige Serie — Meerschweinchen.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

Nr.	Gewicht in g	Zeitdifferenz zwischen Infektion u. Tötung des Tieres in Std.	Untersuchte Lungenteile: rechte Lungenspitze: Gewicht des untersucht. Teiles	Untersuchte Lungenteile: rechte Lungenspitze: Zahl der Kolonien des Bac. prodigiosus	Untersuchte Lungenteile: linker Unterteil: Gewicht des untersucht. Teiles	Untersuchte Lungenteile: linker Unterteil: Zahl der Kolonien des Bac. prodigiosus	Gesamtzahl der Kolonien von Bac. prodigiosus berechnet auf 1 ccm
Meerschweinchen zur Kontrolle.							
1	440	8	0,2	200	0,3	195	790
2	360	20	0,3	100	0,3	110	350
3	540	44	0,4	28	0,1	11	78
4	210	60	0,3	3	0,2	0	6
5	380	72	0,2 1/2	0	0,3	0	0
Lange Zeit infizierte Meerschweinchen.							
1	310	8	0,3	220	0,3	250	783
2	270	20	0,4	130	0,1	75	410
3	465	44	0,3	19	0,2	15	68
4	260	60	0,2 1/2	0	0,3	3	5
5	440	72	0,3	0	0,4	0	0
Mit starken Dosen infizierte Meerschweinchen.							
1	380	8	0,2	200	0,3	210	820
2	390	20	0,1 1/2	120	0,3 1/2	205	650
3	420	44	0,4	32	0,1	23	110
4	220	60	0,3	0	0,2	0	0
5	520	72	0,2	0	0,4	0	0

Tabelle VII.

Bakterizide Kraft des Serums (in vitro).

(Untersuchungen im Jahre 1909.)

Kontrolltiere				Chininisierte Tiere			
Nr.	Gewicht in g	Zahl der Kolonien	Mittel	Nr.	Gewicht in g	Zahl der Kolonien	Mittel
			I. Serie — Kaninchen.				
1	1200	550	671	1 bis	1150	560	643
2	1280	937		2 ›	1200	690	
3	1280	600		3 ›	1380	662	
4	1420	600		4 ›	1420	660	
9	1660	150	173	9 ›	1625	185	186
10	1700	182		10 ›	1630	190	
11	1820	187		11 ›	1835	120	
12	1800	175		12 ›	2275	250	
			II. Serie — Meerschweinchen.				
1	280	342	310	1 bis	300	287	339
2	400	355		2 ›	365	352	
3	435	300		3 ›	400	320	
4	525	245		4 ›	435	460	
9	650	132	156	9 ›	550	147	162
10	635	172		10 ›	680	140	
11	700	164		11 ›	600	200	
11	725	156		12 ›	710	162	

Tabelle VIII.

Phagozytäres Vermögen des Serums.

(Untersuchungen im Jahre 1809.)

Kontrolltiere			Injizierte Tiere		
Nr.	Phagozytäres Vermögen	Mittel	Nr.	Phagozytäres Vermögen	Mittel
I. Serie — Kaninchen.					
1	2,3	1,9	1 bis	2,3	2,1
2	1,1		2 »	3,2	
3	2,5		3 »	1,8	
4	1,8		4 »	2,3	
9	3,1		9 »	1,1	
10	2,1		10 »	1,2	
11	1,2		11 »	3,1	
12	1,3		12 »	2,1	
II. Serie — Meerschweinchen.					
1	3,1	3,1	1 bis	2,3	2,7
2	4,3		2 »	2,5	
3	2,3		3 »	1,4	
4	1,5		4 »	2,7	
9	2,3		9 »	2,6	
10	4,7		10 »	3,2	
11	2,8		11 »	3,3	
12	3,8		12 »	3,8	

Tabelle IX.

Agglutinierungswert des Blutserums der mit Typhustoxin injizierten Tiere.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

Kontrolltiere			Durch 75 Tage injizierte Tiere		Mit starken Dosen injizierte Tiere	
Nr.	Gewicht	Agglutinierungswert	Gewicht	Agglutinierungswert	Gewicht	Agglutinierungswert
			I. Serie — Kaninchen.			
1	805	An anderer Krankheit verendet	850	1 : 1200	750	Verendet nach der 2. Toxininjektion.
2	930	1 : 2000	870	1 : 1750	940	Verendet nach der 2. Toxininjektion.
3	1000	1 : 1000	1250	1 : 1000	1000	1 : 800
4	1130	1 : 400	1250	1 : 850	1070	Verendet nach der 2. Toxininjektion.
5	1290	1 : 1000	1365	1 : 800	1380	1 : 1100
6	1600	1 : 1500	1570	1 : 700	1510	Verendet nach der 3. Toxininjektion.
			II. Serie — Kaninchen.			
7	1050	1 : 400	1010	1 : 700	900	Verendet nach der 1. Toxininjektion.
8	1280	1 : 1300	1250	Verendet nach der 2. Toxininjektion	1150	Verendet nach der 2. Toxininjektion.
9	1290	1 : 1100	1460	1 : 1200	1210	1 : 1750
10	1520	1 : 1000	1480	1 : 800	1340	Verendet nach der 3. Toxininjektion.
11	1700	1 : 800	1690	1 : 1400	1540	Verendet nach der 1. Toxininjektion.

Tabelle X.

Bestimmung des Wertes des Serums nach Pfeiffers Methode.
Einzige Serie — Meerschweinchen.
(Untersuchungen im Jahre 1908.)

Meerschweinchen zur Kontrolle. Nr.	Titel des Serums	Chininisierte Meerschweinchen. Nr.	Titel des Serums
1	> 0,10	1	< 0,30 — > 0,50
2	> 0,50	2	< 0,10 — > 0,30
3	< 0,30 — > 0,50	3	> 0,50
4	> 0,10	4	> 0,50
5	< 0,30 — > 0,50	5	< 0,10 — > 0,30
6	> 0,10	6	> 0,10
7	< 0,10 — > 0,30	7	< 0,10 — > 0,30
8	< 0,10 — > 0,30	8	> 0,50
9	> 0,10	9	> 0,50
10	> 0,10	10	< 0,30 — > 0,50

Tabelle XI.

Bakterizide Kraft des Serums der gegen Typhus immunisierten Tiere.
(Untersuchungen im Jahre 1909.)

Kontrolltiere Nr.	Gewicht in g	Lebens-dauer	Mittel	Chininisierte Tiere Nr.	Gewicht in g	Lebens-dauer	Mittel
I. Serie — Kaninchen.							
1	1360	222	171	1 bis	1250	275	265
2	1400	165		2 »	1250	290	
3	1350	167		3 »	1420	270	
4	1505	130		4 »	1450	225	
5	1580	270	217	5 »	1600	362	346
6	1530	265		6 »	1200	330	
7	1400	180		7 »	1580	312	
8	1630	155		8 »	1550	380	
II. Serie — Meerschweinchen.							
1	300	125	111	1 bis	315	192	202
2	425	110		2 »	380	150	
3	450	105		3 »	400	212	
4	570	107		4 »	420	257	
5	570	150	157	5 »	410	215	190
6	615	137		6 »	440	150	
7	560	180		7 »	485	182	
8	715	162		8 »	590	215	

Tabelle XII.

Opsoninenindex der gegen Typhus immunisierten Tiere.

(Untersuchungen im Jahre 1909.)

Nicht injizierte Tiere			Gegen Typhus immunisierte Kontrolltiere				Chininisierte und gegen Typhus immunisierte Tiere			
Nr.	Phagozytäres Vermögen	Mittel	Nr.	Phagozytäres Vermögen	Mittel	Durchschnittlicher Opson.-Index	Nr.	Phagozytäres Vermögen	Mittel	Durchschnittlicher Opson.-Index
I. Serie — Kaninchen.										
a	2,3	1,6	1	3,5	4,3	2,6	1 bis	2,7	2,4	1,5
b	1,5		2	4,6			2 »	3,4		
c	1,2		3	4,1			3 »	2,4		
d	1,7		4	5,3			4 »	1,2		
e	2,3	2,5	5	7,2	5,8	2,3	5 »	3,7	3,5	1,4
f	2,7		6	5,1			6 »	4,3		
g	1,9		7	6,6			7 »	3,6		
h	3,3		8	4,3			8 »	2,4		
II. Serie — Meerschweinchen.										
a	4,3	2,8	1	6,1	5,5	1,9	1 bis	1,9	3,3	1,1
b	2,2		2	5,5			2 »	3,7		
c	1,8		3	4,9			3 »	4,1		
d	2,9		4	5,6			4 »	3,5		
e	2,5	3,2	5	7,2	6,1	1,9	5 »	4,3	4,3	1,3
f	3,1		6	6,6			6 »	4,9		
g	2,7		7	4,9			7 »	3,2		
h	4,8		8	5,8			8 »	4,8		

Tabelle XIII.

Verhalten der für virulenten Virus empfindlichen Tiere.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

	Kontrolltiere		Durch 75 Tage infizierte Tiere		Während der Inkubationsperiode mit starken Dosen infizierte Tiere	
Nr.	Gewicht in g	verendet nach	Gewicht in g	verendet nach	Gewicht in g	verendet nach
			Milzbrand.			
			I. Serie — Kaninchen.			
1	1010	79 Stunden	1020	54 Stunden	1080	51 Stunden
2	1070	76 »	1090	53 »	1230	24 »
3	1090	bleibt am Leben	1100	36 »	1230	68 »
4	1450	» » »	1120	46 »	1250	72 »
5	1660	92 Stunden	1400	35 »	1280	101 »
6	1750	bleibt am Leben	1820	26 »	1630	82 »
			II. Serie — Meerschweinchen.			
1	350	71 Stunden	350	34 Stunden	400	39 Stunden
2	380	37 »	400	47 »	460	42 »
3	480	61 »	460	53 »	640	41 »
4	650	63 »	640	37 »	730	61 »
			Diplococcus Fränkel.			
			Einzige Serie — Kaninchen.			
1	1270	23 Stunden	1090	29 Stunden	1175	80 Stunden
2	1460	überlebt	1180	14 »	1240	74 »
3	1470	41 Stunden	1300	15 »	1345	35 »
4	1480	überlebt	1400	25 »	1440	18 »
5	1485	39 Stunden	1460	20 »	1450	38 »
6	1940	überlebt	1680	12 »	1600	überlebt.
			Typhus.			
			I. Serie — Kaninchen.			
1	950	26 Stunden	870	22 Stunden	1130	31 Stunden
2	1010	bleibt am Leben	1020	16 »	1200	35 »
3	1210	40 Stunden	1200	21 »	1220	—
4	1290	75 »	1270	36 »	1270	40 Stunden
5	1310	49 »	1280	31 »	1360	42 »
6	1530	bleibt am Leben	1590	40 »	1560	76 »

Fortsetzung der Tabelle XIII.

Verhalten der für virulenten Virus empfindlichen Tiere.

(Untersuchungen im Jahre 1908.)

	Kontrolltiere		Durch 75 Tage infizierte Tiere		Während der Inkubationsperiode mit starken Dosen infizierte Tiere	
Nr.	Gewicht in g	verendet nach	Gewicht in g	verendet nach	Gewicht in g	verendet nach
			Typhus. II. Serie — Meerschweinchen.			
1	265	40 Stunden	230	20 Stunden	230	42 Stunden
2	420	bleibt am Leben	390	14 ›	350	28 ›
3	580	66 Stunden	525	26 ›	500	27 ›
4	620	41 ›	620	32 ›	525	52 ›
			Cholera. I. Serie — Kaninchen.			
1	930	18 Stunden	880	5 Stunden	1000	40 Stunden
2	1240	22 ›	1250	30 ›	1190	28 ›
3	1280	48 ›	1380	20 ›	1280	28 ›
4	1420	überlebt	1470	24 ›	1430	32 ›
5	1540	›	1580	36 ›	1600	60 ›
6	1660	40 Stunden	1650	18 ›	1800	34 ›
			II. Serie — Meerschweinchen			
1	340	42 Stunden	460	18 Stunden	450	28 Stunden
2	430	34 ›	470	29 ›	470	28 ›
3	480	60 ›	520	16 ›	510	45 ›
4	500	überlebt	530	29 ›	520	32 ›
5	520	›	610	12 ›	560	bleibt am Leben

Tabelle XIV.

Bakterizide Kraft des menschlichen Serums.

(Untersuchungen im Jahre 1909.)

Kontrollpersonen					Chininisierte Personen				
Nr.	Name	Alter in Jahren	Lebensdauer	Mittel	Nr.	Name	Alter in Jahren	Lebensdauer	Mittel
1	M. V.	23	160	172	1	R. J.	22	160	168
2	P. B.	23	187		2	S. A.	22	147	
3	M. L.	23	170		3	E. G.	21	180	
					4	P. R.	22	185	
4	J. G.	23	225	221	5	C. P.	21	255	256
5	B. A.	23	220		6	B. G.	21	245	
6	Z. M.	23	220		7	S. G.	21	217	
					8	L. A.	21	257	
7	G. M.	23	212	190	9	S. J.	21	170	175
8	C. A.	23	180		10	C. J.	21	195	
9	B. P.	23	180		11	B. F.	21	180	
					12	D. C. St.	21	165	

Tabelle XV.

Phagozytäres Vermögen des menschlichen Serums.

(Untersuchungen im Jahre 1909.)

Kontrollpersonen			Chininisierte Personen		
Nr.	Phagozytär. Vermögen	Mittel	Nr.	Phagozytär. Vermögen	Mittel
1	3,2	3,7	1	4,8	4,0
2	4,1		2	2,6	
3	3,8		3	4,8	
			4	3,9	
4	6,1	5,0	5	5,3	4,6
5	4,2		6	5,6	
6	4,8		7	3,2	
			8	4,3	
7	2,1	3,1	9	4,8	3,5
8	4,3		10	3,2	
9	3,1		11	1,8	
			12	4,2	

Über den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch.

Von

Dr. W. Rullmann.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.
(Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber.)

I. Einleitung und Methodik.

Die Wahl obigen Themas wurde mir durch die seinerzeit mit Trommsdorff[1]) gemeinsam veröffentlichte Arbeit, Milchhygienische Untersuchungen, ferner durch C. J. Konings[2]), Biologische und biochemische Studien über Milch, sowie einige andere später zu erwähnende Veröffentlichungen auf diesem Gebiete nahegelegt; ganz besonders trug hierzu auch noch Trommsdorffs[3]) neuere Arbeit, Zur Frage der reduzierenden Eigenschaften der Milch usw., bei. Dafs auch in der nachstehenden Arbeit der in letzter Zeit vielfach erwähnten Frage über den Streptokokkengehalt der Milch nach den Vorgängen von Ernst[4]), Rühm[5]), Trommsdorff[6]) u. a. entsprechend Rechnung getragen wird, ist bei der Wichtigkeit dieser Frage für den Milchhygieniker naheliegend.

1) Rullmann u. Trommsdorff, Archiv f. Hygiene, Bd. LIX, 1906, S. 224.

2) C. J. Koning, Pharmaceut. Weekblad 1905, Juni-Nov., übersetzt in Milchw. Zentralbl. 1905, 1907 u. 1908.

3) Trommsdorff, Zentralbl. f. Bakt., I, 1909, Heft 2, S. 291 u. ff.

4) W. Ernst, Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis, Monatshefte für praktische Tierheilkunde, XX. Bd., 9./10. Heft u. XXI. Bd., 1./2. Heft

5) G. Rühm, Kritische Studie nebst eigenen Beiträgen über die Milchleukozytenprobe, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 1909, Heft 6, 7 u. 8.

6) Trommsdorff, Zur Leukozyten- und Streptokokkenfrage, Berliner Tierärztliche Wochenschr. 1909, Nr. 4.

Die Beschaffung aseptisch entnommener Milch, solche allein kann ja nur sicheren Aufschlufs über die originären Bestandteile geben, wurde mir unter Genehmigung der städtischen Schlachthausdirektion in entgegenkommendster Weise durch Herrn G. Rühm, Tierarzt am städtischen Schlachthofe, ermöglicht; durch die Liebenswürdigkeit dieses Herrn gelang es, Material verschiedenster Provenienz in genügender Menge zu erhalten, und es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle Herrn G. Rühm für die viele gehabte Mühe herzlichst zu danken.

Da die Einführung der anderorts beschriebenen Melkröhrchen resp. Metallkatheter leider auch bei vorsichtigster Benutzung Entzündungen hervorrufen kann, so entnahmen wir im Anfange der Untersuchungen nur von den zum Tode bestimmten Schlachthoftieren mittels dieser Röhrchen die zu untersuchende Milch; bei den späteren Untersuchungen von Tieren aus Privatbesitz konnten allein die weitestgehenden Reinlichkeits- und Vorsichtsmafsregeln zum Ziele führen, und es war hier ganz besonders grofse manuelle Fertigkeit notwendig, um die Tiere beim Melken ruhig zu halten. Den schon genügend bekannten Einzelheiten über sterile Entnahme sei noch beigefügt, dafs sich uns ein Einreiben des das Euter in weiterem Umkreis begrenzenden Felles mit weifser Paraffinsalbe als sehr praktisch erwies. Vor Aufnahme in die sterilisierten Sammelgefäfse wurde immer erst eine Partie Milch abgemolken und entfernt.

Bei den folgenden Untersuchungen wurden jedesmal auf Tabellen die Resultate verzeichnet und dann die sich ergebenden Folgerungen so zusammengestellt, dafs jede Untersuchung ein geschlossenes Ganzes bildete. Die einzelnen Zitzen der Kühe wurden immer von links nach rechts gezählt, so dafs die linke Vorderzitze mit 1, die rechte mit 2, die linke Hinterzitze mit 3 und die rechte mit 4 bezeichnet ist; aufserdem wurden laufende Nummern beigesetzt, um angelegte Reinkulturen und besondere Ergebnisse in kurzer Weise hervorheben zu können. Bezüglich der Nomenklatur der Enzyme schliefse ich mich den zuletzt von Trommsdorff[1]) niedergelegten Anschauungen an, wie wir

1) Trommsdorff, Zentralbl. f. Bakt., I, 1909, Heft 2, S. 291 u. ff.

solche einer gemeinsamen Besprechung mit Herrn Professor Oskar Loew verdanken.

Auch wurden Kontrollversuche zur Feststellung der Peroxydase nach dem Vorgange von Dr. Percy Waentig[2]) ausgeführt, welcher in seiner Arbeit auf die Verschiedenartigkeit des Ausfallens der Reaktion je nach der Art und Beschaffenheit der verwendeten Guajaktinktur hinweist.

Wir ersehen hier, dafs das Guajakharz in Lösung, aber auch im trocknen Zustand (namentlich feiner Verteilung) bei Zutritt von Luft und Licht einer allmählichen, für seine chemischen Verhältnisse charakteristischen Änderung unterworfen wird; es enthält einen autoxydablen Stoff, der befähigt ist, im trocknen Zustand in nur indirekt nachweisbaren Mengen in einen sauerstoffhaltigen Körper überzugehen. Dieser Körper ist unbeständig und vermag die im Guajakharz enthaltene Guajakonsäure zu einem blauen Farbstoffe zu oxydieren. Dieser Farbstoff ist in trocknem Zustande ziemlich beständig, in Lösungen oder im Emulsionszustand des Harzes zersetzt er jedoch sich leicht wieder in ein farbloses Produkt.

Meine Untersuchungen wurden nach Waentigs Vorgehen mit den verschiedenartig hergestellten Guajaharztinkturen ausgeführt und haben gleiche Resultate ergeben, so dafs ich mich dieses Forschers Sätzen vollkommen anschliefse. Er sagt: Die Guajakreaktion sollte immer unter Verwendung von H_2O_2 angestellt werden; dann ist sie, falls andere Oxydationsmittel, welche das Guajakharz rasch zu bläuen vermögen, ausgeschlossen sind, wie die Dupouy-Storchschen Reagenzien als Mittel zum Peroxydase-Nachweis zu betrachten, und ferner, dafs für die praktische Frage der Milchuntersuchung zur Empfindlichkeit der Reaktion erforderlich ist, mit dem Zusatz von H_2O_2 aufserordentlich vorsichtig zu sein, da die Peroxydasemenge einerseits und der Zustand der Guajaktinktur anderseits bestimmend mitwirkt. Der negative Ausfall der unter den notwendigen Vor-

1) P. Waentig, Arbeiten aus dem Gesundheitsamt 26, 1907.

sichtsmafsregeln angestellten Reaktion bedeutet aber stets die Zerstörung eines integrierenden Bestandteiles der Milch, der Peroxydase. Und gerade durch diese Eigenschaft wird sie zur Ermittlung von Peroxydase in der Milch verwendbar und läfst sogar durch die Abstufung im Farbenton die Beurteilung von Mischungen roher und erhitzter Milch[1]) zu. Die genau nach Waentigs Vorschrift hergestellten Tinkturen A und B wurden auch nach seinen Vorschlägen entweder belichtet in weifsen Flaschen oder unbelichtet in braunen, ganz gefüllten kleinen Fläschchen aufbewahrt. Anfangs, nach eben vollendeter Herstellung, differierte das zeitliche Eintreten der Reaktion und bei Tinktur B traten rasche Farbenunterschiede ein, doch verschwand nach längerem Gebrauch der verschiedenen Lösungen diese Differenz, aber es war doch die Brauchbarkeit der viel verleumdeten Guajaklösung im Sinne Waentigs bewiesen.

Bevor ich einige hierher gehörige Versuche mit Guajaktinktur unter Zusatz von H_2O_2 anführe, mufs ich auf eine nicht allseits bekannte Tatsache bezüglich des letzteren Reagenses aufmerksam machen.

Bei Benutzung einer frisch angebrochenen Flasche Merckschen Perhydrols konstatierte ich Rötung des Lackmuspapieres und erfuhr auf Befragen bei Merck, dafs diese Rötung durch die chemische Natur des Perhydrols selbst und nicht etwa durch eine das Präparat verunreinigende Säure bedingt sei. Das Mercksche Perhydrol gibt weder mit salpetersaurem Silber noch mit Baryumchlorid die geringste Trübung. Auf Kongolösung reagiert es mit schwach violetter Färbung, im Gegensatz zur blauen Färbung der Mineralsäuren, und die Rötung des Lackmuspapieres erfolgt mehr in der durch Kohlensäure bedingten Nuance. Wird dieses Perhydrol durch Eintragen einer Spur Platinschwamm oder anderer indifferenter Mittel in der Wärme zerstört, so zerfällt es in Sauerstoff und Wasser; die zurück-

1) Rullmann, Reaktionen der oxydierenden Enzyme der Kuh- und Frauenmilch. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genufsmittel 1904, Heft 2.

bleibende Flüssigkeit selbst aber ist ohne jegliche Einwirkung auf Lackmus, so dafs der Beweis erbracht ist, dafs keine Spur Säure in dem ursprünglichen Präparate vorhanden war.

Tabelle 1.

Peroxydasereaktion mit Guajaktinktur **B** und wechselnden Mengen von H_2O_2 bei aseptisch gewonnener, aber nicht keimfreier Milch.

<table>
<tr><th>Lauf. Nr.</th><th>Zusatz von 1 Tropfen 3 proz. H_2O_2 zu 20 ccm</th><th>Zusatz von 2 Tropfen 3 proz. H_2O_2 zu 20 ccm</th><th>Zusatz von 5 Tropfen 3 proz. H_2O_2 zu 20 ccm</th></tr>
<tr><td>5</td><td>Sofort blaugrau</td><td>In 2 Min. blaugrün.</td><td rowspan="2">In 3 Min. blaugrau. Farbe bleibt stehen.</td></tr>
<tr><td></td><td colspan="2">Nach 30 Min. wieder farblos.</td></tr>
<tr><td>6</td><td>Nach 15 Min. noch kein vollkommener Ring.</td><td>Nach 15 Min. deutlicher Ring, welcher aber nach einiger Zeit wieder verschwindet.</td><td>Nach 15 Min. kräftiger, stehen bleibender Ring.</td></tr>
<tr><td>7</td><td colspan="3">Ringbildung fast gleichmäfsig stark und rasch eintretend. Färbung bleibt 1 Std. gleichmäfsig.</td></tr>
<tr><td>8</td><td>Nach 15 Min. noch keine Ringbildung.</td><td colspan="2">Nach 15 Min. kräftiger und stehen bleibender Ring.</td></tr>
</table>

Aber auch ein kleiner Versuch mit Storchs Reagens — Paraphenylendiaminchlorhydrat (2 proz. Lösung) sei angeführt, um die Einwirkung erhöhter Mengen von 3 proz. H_2O_2 zu zeigen.

Tabelle 2.

Peroxydasereaktion mit Storchs Reagens bei aseptisch gewonnener aber nicht keimfreier Milch.

<table>
<tr><th>Lauf. Nr.</th><th>Zusatz von 1 Tropfen H_2O_2</th><th>Zusatz von 3 Tropfen H_2O_2</th><th>Zusatz von 5 Tropfen H_2O_2</th><th>Zusatz von 10 Tropfen H_2O_2</th><th>Zusatz von 20 Tropfen H_2O_2</th></tr>
<tr><td>3</td><td>Sofort Färbung, jedoch nur ganz leicht, nach 3 Min. in Graublau übergehend.</td><td>Sofort deutlich graublauer Ring.</td><td colspan="3">Sofort kräftige Reaktion; mit erhöhtem H_2O_2-Zusatz an Intensität und Ausdehnung zunehmend.</td></tr>
<tr><td>4</td><td colspan="5">Ganz genau wie bei Nr. 3.</td></tr>
</table>

Nach der aus diesen beiden Versuchen gemachten Erfahrung, welche früher gewonnene Ergebnisse bestätigte, wurde bei allen späteren Nachweisen von Peroxydase die unter allen Umständen ausreichende gleiche Menge von je 10 Tropfen 3proz. H_2O_2 auf 20 ccm Milch genommen, die Flüssigkeit gut umgeschüttelt und dann je nach Wahl die entsprechende Menge Guajaktinktur oder Storchsches Reagens aufgeschichtet.

Bei den Versuchen des Nachweises der direkten Oxydase wurden die gleichen Reagenzien, ohne H_2O_2-Zusatz benutzt; hier sei nochmals auf Waentigs[1]) Arbeit S. 477 verwiesen.

Bezüglich der übrigen in dieser Arbeit angewendeten Methodik möchte ich nachfolgende Punkte erwähnen.

Bei Anlegung von Plattenkulturen (Agar) wurden stets zwei Aussaaten zu 0,5 und 1 ccm gemacht und solche meist 3 Tage bei 37° C belassen. Dann wurden aber auch stets Einsaaten in Bouillon gemacht, und nach meinen im Laufe der Untersuchungen gemachten Erfahrungen mufs ich solche als unerläfslich bezeichnen. So fand ich in sehr zahlreichen Fällen keimfreie Platten, während die mikroskopisch geprüften Bouillonkulturen die Anwesenheit von Bakterien ergaben. Gewöhnlich nahm ich die gleichen Einsaatmengen wie bei den Plattenkulturen, in einzelnen Fällen steigerte ich dieselben aber bis zu 10 ccm und beobachtete immer erst nach 3 Tagen. In allen Fällen, in welchen die Proben als steril bezeichnet sind, ist zur absoluten Sicherheit in dieser Weise verfahren worden und die Beobachtungsdauer der Bouillonkulturen bis zu acht Tagen ausgedehnt worden, worauf Ausstriche auf Schief-Agar folgten.

Auch sei gleich eingangs darauf hingewiesen, dafs ohne wahrnehmbare Verhärtungen am Euter, sowohl in den direkten Einsaaten von Milch in Bouillon als auch bei Einsaat des Leukozytenzentrifugates in Bouillon, selbst wenn letzteres nur in ganz verschwindend kleinen Mengen ($^1/_{10\,000}$) sich abgeschieden hat, Streptokokken vorhanden sein können und

1) P. Waentig, Arbeiten aus dem Gesundheitsamt, 26, 1907.

bei unseren Untersuchungen auch mehrfach nachgewiesen wurden. Daſs sich auch im direkten Milchpräparate Kolostrumkörperchen und Leukozyten zeigen, ist nach Rühms Zusammenstellung (a. a. O.) der diesbezüglichen Literatur erklärlich (vgl. Bab, Czerny, Vasal u. a.), da Kühe, welche, wie die Schlachthaustiere, lange nicht gemolken wurden, Stauungskolostrum und Leukozyten ausscheiden.

Die Diastasereaktion wurde immer nach Koning[1]) ausgeführt.

Auch der Katalasegehalt wurde nach dieses Autors[2]) Angaben ermittelt; alle von ihm niedergelegten Beobachtungen wurden durch den Verlauf meiner Untersuchungen bestätigt. Ich benutzte immer mit Skaleneinteilung versehene sterilisierte Gärröhrchen; die H_2O_2-Lösung wurde aus dem schon erwähnten Merckschen Perhydrol (30 Gewichtsprozente = 100 Volumprozenten) durch Verdünnen mit destilliertem Wasser gewonnen und als 1 proz. H_2O_2 verwendet. Nach sterilem Einführen von 10 ccm Milch mittels steriler Pipette wurden jedesmal 10 ccm dieses 1 proz. H_2O_2 zugefügt und nach Verschluſs der kugelförmigen Eingangsöffnung des Gärröhrchens mit steriler Watte durch vorsichtiges Hin- und Herbewegen, wobei zugleich die Mischung der Flüssigkeiten stattfand, die Luft verdrängt, bis eine die Röhre bis zur oberen Rundung vollkommen füllende Flüssigkeitssäule entstanden war. War der Katalasegehalt ein normaler, dann erfolgte die Zersetzung mehr oder minder langsam, bei anormaler, besonders pathologischer Milch aber sehr stürmisch, so daſs häufig die Wattepfropfen herausgepreſst wurden. In letzterem Falle muſste die Milch mit sterilisiertem Wasser entsprechend verdünnt und mehrmals geprüft werden. In Kubikzentimetern ist dann immer die Menge des entwickelten Sauerstoffes angegeben.

Die Leukozytenmengen wurden nach der bekannten Trommsdorffschen Methode bestimmt und die Säuregrade nach Henkel-Soxhlet. Ebensowenig wie die eben genannten

1) Koning, Milchwirtschaftl. Zentralblatt 1907, S. 48.

2) Koning, Milchwirtschaftl. Zentralblatt 1907, S. 68—69.

Bestimmungsarten bedarf die Schardingersche Reaktion als solche weiterer Ausführung; wenn nicht anders bemerkt, ist diese Reaktion immer bei der vom Autor angegebenen Temperatur von 45—50° C ausgeführt. Die Schwierigkeit der Erklärung der Reaktion wird an geeigneter Stelle besprochen. Auch die Smidt-Müllersche Prüfung auf Reduktase bei 37° C ist hinreichend bekannt.

Die weniger häufig ausgeführte Untersuchung auf Hydrogenase und Salolase geschah immer nach Konings[1]) diesbezüglichen Angaben.

II. Vollkommen sterile Milchproben und deren Enzymgehalt.

Bei der Untersuchung von 84 aseptisch entnommenen Milchproben ist es gelungen, 20 vollkommen steril zu erhalten. Zweimal erhielten wir Proben aus den vier Zitzen je einer Kuh keimfrei, in den anderen Fällen gelang es nur, bei einzelnen Zitzen Keimfreiheit zu erzielen, während die übrigen Zitzen keimhaltige, wenn auch meist bakterienarme Milch ergaben; war die Keimzahl eine sehr geringe, dann ist anzunehmen, dafs es sich um eine schwer vermeidbare Verunreinigung durch Luftkeime handelt.

Die folgenden Tabellen enthalten jedesmal die sämtlichen erzielten Resultate der angestellten Untersuchungen; da aber die Untersuchungspunkte wechselten, so mufs eine Anzahl der sterilen Proben einzeln gebracht werden und können nicht alle Ergebnisse auf eine Tabelle zusammengestellt werden.

Interessant ist es, dafs bei folgenden beiden Proben, im Gegensatze zu späteren Resultaten steriler Milch, ein verhältnismäfsig hoher Katalasegehalt konstatiert wurde, um so mehr, als die ermittelte Leukozytenmenge nur eine äufserst niedrige war. Die Erklärung mufs in folgender Beobachtung gesucht werden. Bei den vier Proben dieser Entnahme war die gelblichgraue Farbe und die Abscheidung sehr geringer Fettmengen auffallend; infolge des minimalen Leukozytengehaltes konnte jedoch eine auf ausgeheilter Streptokokkenmastitis begründete Farb-

1) Koning, Milchwirtschaftl. Zentralbl. 1907 u. 1908, Die Enzyme.

Tabelle 3.

21. Dez. 1908. Aseptisch entnommen 2 Uhr 30 Min, in Eis 2 Uhr 40 Min.

Lauf. Nr.	Agarplatten	Bouillonkultur	Leukozyten	Säuregrade	Redaktase nach Smidt-Müller	Katalase
17 Zitze 1	Nach 42 Std. = θ nach 66 Std. = θ	Nach 66 Std. = θ nach 5 Tgn. = θ	0,001 = $^{1}/_{10000}$ in 10 ccm	5,8 °	Nach 66 Std. = keine Entfärbung	nach 18 Std. = 3 ccm, am 30. XII. 08 nach 24 Std. = 2,8 ccm, am 11. I. 09 nach 24 Std. = 3 ccm. (Proben stand. im Eis.) Eine 2. Probe stand vom 21. XII. 08 bis 5. I. 09 bei Zimmertemper., nach 24 Std. = 2,8 ccm.
18 Zitze 2	Wie bei 17	Wie bei 17	0,001 = $^{1}/_{10000}$ in 10 ccm	4,8 °	Wie bei 17	Nach 18 Std. = 3,6 ccm, am 30. XII. 08 nach 24 Std. = 2,8 ccm, am 11. I. 09 nach 24 Std. = 1,8 ccm. (Proben stand. im Eis.) Eine 2. Probe stand vom 21. XII. 08 bis 5. I. 09 bei Zimmertemper., nach 24 Std. = 2,6 ccm.

änderung nicht die Ursache dieser Erscheinung sein, und der befragte Tierarzt erklärte, dafs möglicherweise ausgetretener Gallenfarbstoff der Grund hierfür sei. Auch könne die betreffende Kuh an Magendarmkatarrh erkrankt gewesen sein und der Futterwechsel habe noch mitgewirkt, wie auch eine Reduktion von Hämoglobin nicht ganz auszuschliefsen sei. Am meisten aber falle bei etwa vorhanden gewesener Stauungsmastitis die so geringe Leukozytenmenge auf und es sei jedenfalls auf Gallenfarbstoff zu prüfen.

Die angestellte Gmelinsche[1]) Probe ergab zwar ein schwach positives Resultat, dagegen fiel die Rosin-Huppert- und Hammerston-Probe negativ aus; waren also Gallenfarbstoffe vorhanden, dann konnten es nur geringe Mengen sein. Es mufs aber doch angenommen werden, dafs ein pathologischer Prozefs, welcher auch die erwähnte gelblichgraue Färbung der Milch hervorgerufen hat, Grund zur Bildung des für eine keimfreie Milch hohen Katalasegehaltes abgab, und es wird durch Konings[2]) Angaben auf diese Möglichkeit hingewiesen.

Nun wären die zwei keimfrei befundenen Proben zur weiteren Ermittlung von originären Enzymen usw. sehr geeignet gewesen, aber da die Feststellung völliger Keimfreiheit immer mindestens 3 Tage beansprucht und die Mengen der zur Verfügung stehenden Milch nicht allzugrofse sind, so müssen häufig Reaktionen unterbleiben, welche gerade in dem betreffenden Falle Aufschlufs geben konnten. Im Laufe der noch zu schildernden Untersuchungen wird sich jedoch ergeben, dafs alle diesbezüglichen Fragen berücksichtigt werden konnten.

Tabelle 4.

5. März 1809. Aseptische Entnahme von einer Kuh, welche mehrere Tage nicht gemolken worden war; 20 Minuten nach Entnahme in Eis.

Lauf. Nr.	Agarplatten	Bouillonkultur	Leukozyten	Katalase	Schardinger-Reaktion + Formalin	Reduktase nach Smidt-Müller	Oxydasereaktion, also ohne H_2O_2
33 Zitze 1	Nach 5 Tagen kein Wachstum.	Nach 72 Std. = θ; nach Einsaat von 5 ccm Milch nach 5 Tgn. keine Entwicklung nachweisbar.	0,003 in 10 ccm; im Ausstrichpräparat keine Streptokokken nachweisbar.	Nach 1 Std. = θ; nach 18 Std. = 1,8 ccm; nach 24 Std. = 2 ccm.	In 8 Min. entfärbt.	Nach 5 Tgn. keine Entfärbung.	Milch wurde in eine den Boden d. Gefäfses 1 cm hoch deckende Paraffinölschicht gemolken und so vor Luftsauerstoff geschützt ergab in 18 Std. deutliche Reaktion. Ungeschützt in 20 Min.

Hier sei hervorgehoben, dafs in diesem Falle eine direkte Oxydase nachweisbar war.

1) S. Fränkel, Wiesbaden bei Bergmann, 1904, S. 46—47.

2) Koning, Milchwirtschaftl. Zentralbl. 1908, S. 173—174.

Tabelle 5.

27. Mai 1909. Aseptische Entnahme auf dem Mustergute B.; Proben sofort in Eis, worin sie bis zur Verarbeitung verblieben.

Lauf. Nr.	Agarplatten	Bouillonkultur	Leukozyten	Katalase	Reduktase nach Smidt-Müller	Diastase	Katalase 2. Prüfung	Reduktase nach Smidt-Müller 2. Prüfung
49 Zitze 1	Nach 96 Std. kein Wachstum.	Nach 5 Tgn. noch keimfrei.	Unmeſsbare Spuren.	Nach 1 Std. nur unmeſsbare Spuren, nach 24 Std. = 0,4 ccm.	Nach 96 Std. keine Spur Entfärbung.	Nach 8tägigem Stehen im Eis: + 3 Tropfen Amylumlösung rufen gelbe Färbung hervor.	nach 24 Std. = 0,4 ccm	nach 96 Std. keine Spur Entfärbung.
51 Zitze 3, 52 Zitze 4	Die Proben 51 und 52 verhielten sich in allen untersuchten Punkten genau wie 49.							

Bei diesen drei keimfreien Proben sei ganz besonders auf den gleichmäſsig niedrigen Katalasegehalt verwiesen.

Tabelle 6.

Sterile Milchentnahme von zwei Kühen des Mustergutes B. Sofort in Eispackung und bis zur Verarbeitung darin verblieben.

Art der Untersuchung	Kuh Nr. 6				Kuh Nr. 31			
	Zitze 1 Lauf. Nr. 53	2 54	3 55	4 56	1 57	2 58	3 59	4 60
Agarplatten zu 2 ccm Aussaat	nach 48 Stunden bei 37° C keine einzige Kolonie » 96 » » 37° C » » »							
Bouillonkultur 2 ccm Einsaat	nach 48 Stunden bei 37° C in keinem Präparate Bakterien » 96 » » 37° C » » » » » 6 Tagen » 37° C » » » »							
Leukozyten	unmeſsbare Spuren.							
Schardinger-Probe + MF.	in 1/4 Std. entfärbt	fehlte Material		in 25 Min. entfärbt	fehlte Material			
Katalase	nach 12 Stunden in ccm:							
	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
	nach 48 Stunden in ccm:							
	0,4	0,5	0,4	0,2	0,4	0,3	0,2	0,2
Smidt-Müller Reduktase	nach 48 Stunden bei 37° C keine Spur Entfärbung » 96 » » 37° C » » » » 9täg. Stehen bei Zimmertemper. keine Entfärbung							
Diastase	nach Zusatz von 4 Tropfen lösl. Stärke in allen Proben gleichmäſsig gelbe Farbe.							
Hydrogenase	in keiner Probe Reaktion.							
Salolase	» » » »							

Während, wie aus Tabelle 6 ersichtlich, es uns gelungen war, von zwei Kühen aus allen Zitzen vollkommen keimfreie Milch zu erhalten, war es bei der am 15. Juli 1909 folgenden Entnahme, also 38 Tage später, von denselben Kühen und bei gleichen Vorsichtsmaſsregeln nur noch möglich, im ganzen drei sterile Proben zu bekommen.

Tabelle 7.

15. Juli 1909. Aseptische Entnahme von den Kühen 6 und 31, welche am 8. Juni 1909 vollkommen sterile Proben ergeben hatten. Eispackung sofort wie immer

Art der Untersuchung	Kuh 6		Kuh 31
	Laufende Nummer		
	71	72	75
Agarplatten	nach 40 Stunden kein Wachstum.		
Bouillonkultur	bei 2 ccm Einsaat nach 5 Tagen kein Wachstum. Ausstriche von Bouillonkultur auf schieferstarrtem Peptonagar ergebnislos		
Leukozyten	ganz unmeſsbare Spuren.		
Katalase	nach 16 Std. = 0,8 ccm	nach 16 Std. = 0,6 ccm	nach 16 Std. = 0,5 ccm
	nach 40stündigem Stehen bei Zimmertemperatur ebensoviel,		
	nach 8tägigem Stehen in Eiskühlung:		
	nach 24 Std. = 0,6 ccm	nach 24 Std. = 0,6 ccm	nach 24 Std. = 0,6 ccm
Schardinger Reaktion + MF	fehlte Material	in 6 Min. entfärbt	in 6 Min. entfärbt
Reduktase Smidt-Müller	nach 40 Stunden keine Entfärbung, ebenso nach 4 Tagen, ebenso nach 9 Tagen.		
Peroxydase ohne Paraffinöl	sofort blaugrau		fehlte Material
Peroxydase in Paraffinöl gemolken	sofort blaugrau	fehlte Material	sofort blaugrau
Hydrogenase sofort untersucht	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
Hydrogenase in 8 Tage alter Milch	wie vorstehend	wie vorstehend	wie vorstehend.

Vor dem endgültigen Abschlufs der Untersuchungen wurde der Versuch wiederholt, von den Tieren, welche vor einem halben Jahre aus allen Zitzen oder wenigstens aus einzelnen keimfreie Milch gegeben hatten, solche abermals zu erlangen. Es hatte sich seinerzeit bei den Kühen vom Mustergute B bei Kuh Nr. 6 (Tabelle 6 u. 7, Abteilung II) ergeben, dafs bei der nach 38 Tagen wiederholten Prüfung nur noch zwei Zitzen keimfreie Milch lieferten und bei Kuh 31 sogar nur noch eine Probe steril zu gewinnen war. Als wir dann am 12. Februar 1910 wieder Proben entnahmen, war Tier 31 infolge eines komplizierten Schenkelbruches getötet worden und wir mufsten auf ein anderes Tier zurückgreifen, welches am 27. Mai 1909 aus drei Zitzen keimfreie Milch gegeben hatte, siehe Tabelle 5. Aufser der Feststellung über allenfallsige Keim- und besonders Streptokokkeneinwanderung war es uns auch darum zu tun, über die Existenz von direkter Oxydase ein endgültiges Resultat zu bekommen. Zweck dieses hatten wir eine gröfsere Anzahl von sterilen Reagenzfläschchen mit einer etwa $1^1/_2$ cm hohen Paraffinölschicht beschickt, damit die zu entnehmenden Proben zum Luftabschlusse durch das spezifisch leichtere Paraffinöl geschützt seien. Auch war zu diesem Zwecke morgens eine Lösung von Paraphenylendiaminchlorhydrat frisch bereitet worden, damit jeder Einwurf, dafs in diesem Reagens selbst eine Peroxydase vorhanden gewesen sei, als hinfällig bezeichnet werden konnte. Nach Rückkehr in das Institut gelangten die am Entnahmeort in Eis gepackten Röhrchen sofort zur Untersuchung, nachdem sie durch Einstellen in leicht erwärmtes Wasser die Zimmertemperatur angenommen hatten. Die Art des Eintretens der Reaktion ist auf Tabelle 7b angegeben und damit bewiesen, dafs tatsächlich kleine Mengen von direkter Oxydase in ganz keimfreier und in keimarmer Milch originär vorhanden sind.

1) Bei Kuh 6 haben wir, wie am 15. Juli 1909, nur zwei keimfreie und von Kuh 92 im Gegensatze zu der Untersuchung vom 27. Mai 1909 nur eine keimfreie Probe erhalten; die anderen Proben aber waren alle sehr keimarm = 2 Keime in 1 ccm.

Tabelle 7b.

12. Februar 1910. Aseptische Entnahme von zwei bereits früher untersuchten Kühen des Mustergutes B.

Milch sofort in Eispackung.

Art der Untersuchung	Kuh Nr. 6, altmelkend sehr wenig Milch. Zitze 1	2	3	4	Kuh Nr. 92, frisch melkend. Zitze 1	2	3	4
	Probe Nr. 77	78	79	80	Probe Nr. 81	82	83	84
Agarplatten 2 ccm Aussaat	nach 48 Std. = θ nach 96 Std. = θ	θ θ	θ nach 72 Std. = 2 Kolon.	θ nach 96 Std. = θ	θ nach 72 Std. = 2 Kolon.	θ nach 96 Std. = θ	θ θ	θ θ
Bouillonkultur 2 ccm Aussaat	nach 96 Std. = θ Ausstrich auf Agar = θ	= θ Ausstrich auf Agar = θ	mehrere 2—4 gliedrige und vereinzelte 6 bis 8 gliedrige Ketten	Diplokokken, einzelne 3 bis 4 gliedrig zusammen	zahlreiche Kugelformen 2—4 gliedrig zusammen	nach 96 Std. = θ Ausstrich auf Agar = θ	nach 96 Std. vereinzelt 2—3 Kugeln zusammenliegend	wie bei 83
	in zehn Kubikzentimetern Milch:							
Leukozyten	0,001 im Ausstrich = θ	Spuren im Ausstrich = θ	0,002 im Ausstrich vereinzelte Kugelformen, Leukozyten	Spuren, im Ausstrich einzelne Kugelformen	Spur	0,001 im Ausstrich = θ	Spur	Spur

Katalase	nach einer halben Stunde keine Entwicklung							
	nach 24 Std = 2 ccm	2,4 ccm	2,2 ccm	2,2 ccm	0,4 ccm	0,6 ccm	1 ccm	0,7 ccm
Direkte Oxydase ohne H_2O_2	nach 1 1/4 Stunde keine Farbänderung						Spur graublau	keine Farbänderung
	nach 24 Stunden in allen Proben deutliches Eintreten der Farbänderung, welche weiter überall gleichmäfsig in allen Proben zunahm.							
Schardinger-Reaktion MF	fehlte Material	in 3 Min. entfärbt	in 3 Min. entfärbt	fehlte Material	in 13 Min. entfärbt	in 12 Min. entfärbt	in 13 Min. entfärbt	in 12 Min. entfärbt
Schardinger M	fehlte Material		in 24 Std. bei 45° leichte Entfärbung, welche nach längerer Einwirkung bis 1/8 fortschreitet.	fehlte Material	nach 24 Stunden keine Spur Einwirkung			
Peroxydase mit Storchs Reagens	gleichmäfsig in allen acht Proben							
Reduktase Smidt-Müller bei 37°	in allen acht Proben nach 24 Stunden keine Entfärbungen							
	» » » » » 72 » » »							
	nach 96 Std. = θ	nach 96 Std. = θ	nach 96 Std. leichte Entfärbung	nach 96 Std. = θ	nach 96 Std = θ	nach 96 Std. = θ	nach 96 Std. 1/3 entfärbt.	nach 96 Std. = θ
Säuregrade Henkel-Soxhlet	fehlte Material				8,2°	fehlte Material	8,2°	7,6°

Anderseits haben wir bei der Schardinger-Reaktion mit Methylenformalin bei Probe 78 und 79, deren Milch von einer altmelkenden Kuh stammt, einen Beweis für den von Schern[1]) aufgestellten Satz, »daſs bei altmelkenden Kühen der die Entfärbung auslösende Körper präformiert vorhanden sei«, dadurch gefunden, daſs bis jetzt bei keiner Untersuchung normaler, also nicht pathologischer Milch die Entfärbung so rasch wie diesmal in drei Minuten eintrat, und wir sehen im Gegensatz bei der frischmelkenden Kuh 92, daſs hier die Entfärbung 12—13 Minuten bei den Proben 81—84 inkl. beanspruchte.

Die gewonnenen 20 keimfreien Proben ergaben bezüglich des Gehaltes an originären Enzymen:

1. Das Vorhandensein von Katalase in schwankenden Mengen von 0,2 ccm bis zu 3,6 ccm entwickelten Sauerstoff.

2. Das Vorhandensein von Peroxydase; die Reaktion tritt in gleicher Stärke ein, ob die Milch zum Ausschlusse von Luftsauerstoff in eine Paraffinölschicht gemolken wurde oder nicht.

3. Diastase war stets nachweisbar.

4. Die Schardinger-Reaktion mit Methylenblauformalin hat stets die Gegenwart des sogenannten Schardinger-Enzyms bewiesen.

5. Das Vorhandensein geringer Mengen einer direkten Oxydase ist bei vier Proben keimfreier und in vielen Proben äuſserst keimarmer Milch bewiesen (siehe zuletzt Tabelle 7b). Die positiven Resultate sind durch das Storchsche Reagens erbracht worden; Guajaktinktur A und B haben niemals eine Reaktion in diesen Fällen ergeben.

6. Das Fehlen der Reduktase nach Smidt-Müller ist in allen keimfreien Proben konstatiert.

7. Ebenso fehlt in solchen Hydrogenase und

8. Salolase. — Nr. 6, 7 u. 8 sind also bakteriellen Ursprunges.

1) Schern, Biochem. Zeitung 1909, S. 260—284.

Den aus den angeführten keimfreien Proben gezogenen Schlüssen über die originären Enzyme seien einige Zeilen über die Anschauungen verschiedener Forscher aus neuerer Zeit beigefügt; dieselben suchen das Eintreten mancher Reaktionen in einer der allgemeinen Anschauung widersprechenden Weise zu erklären.

So sagt Orla Jensen[1]) in seinen Schlufssätzen: »dafs die Peroxydase ausschliefslich von dem Tiere herrührend wahrscheinlich zum gröfsten Teile vom Futter abhängig sei.« Wäre dies der Fall, dann dürften doch wohl häufigere und bemerkenswertere Schwankungen in der Stärke der Reaktion zu beobachten sein; ich wenigstens habe gelegentlich jahrelang fortgesetzter Kontrolluntersuchungen bei Rohmilch noch niemals in die Augen fallende Unterschiede in dem Eintreten der Farbeerscheinungen beobachtet. Dagegen kann der von mehreren Forschern, so zuletzt von F. Bordas und F. Touplain[2]) ausgesprochenen Ansicht, dafs nicht Fermente, sondern der Käsestoff der Milch die Ursache der Zerlegung des H_2O_2 sei und dem hierdurch hervorgerufenen Eintreten der Storchschen Reaktion insofern eine teilweise Berechtigung nicht abgesprochen werden, als auch das Kasëin für sich allein, wie später gezeigt wird, eine schwache Reaktion gibt, die aber mit der von den Fermenten ausgelösten quantitativ nicht vergleichbar ist. Wir wissen, dafs eine längere Zeit auf 70° und höher erhitzte Milch die Fähigkeit verloren hat, mit dem Storchschen Reagens eine in wenigen (1—2) Minuten eintretende Farbenänderung zu erzeugen. Nun haben Bordas und Touplain eine über 80—100° erhitzte Milch nach zweimaligem Aufwallen und Abkühlen zentrifugiert und nach Trennung der Milch in drei Schichten, solche einzeln mit dem Reagens versetzt. Sie fanden, dafs der Rahm und die feste Bodenschicht positiv reagierten, während die Magermilch unverändert blieb. Diese Erscheinungen zeigten sich ihnen stets in erhitz-

1) Orla Jensen, Referat in Milchw. Zentralblatt 1907, S. 507.

2) Bordas et Touplain, Comptes rendus de l'academie des sciences 148, 1909, S. 1057—59. Refer. Milchw. Zentralbl. 1909, Heft 10, S. 458.

ter Milch, gleichgültig wie hoch die Temperatur gewesen war. Die Angaben der französischen Forscher veranlaſsten eine Nachprüfung. Rohmilch wurde aufgekocht, zweimal aufwallen lassen und nach dem Abkühlen mittels elektrischer Zentrifuge 15 Minuten lang zentrifugiert, die fest abgeschiedene Rahmschicht zur Verteilung in einen kleinen Mörser gegeben und dann die Magermilch aus dem Zentrifugengläschen gesogen und 20 ccm in ein Reagensröhrchen gefüllt. Dann wurde der Rest von Magermilch ganz entfernt, der von Bordas und Touplain als Niederschlag bezeichnete Leukozytenabsatz mit der Rahmschicht vereinigt, verrieben und mit sterilem Wasser ebenfalls zu 20 ccm aufgefüllt. Eine gleiche Flüssigkeitsmenge wurde durch Zerreiben von käuflichem Kasëin mit sterilem Wasser hergestellt und ferner noch ein gleiches Röhrchen der erhitzten aber nicht zentrifugierten Milch mit in Betracht gezogen. In ganz gleicher Weise wie angegeben, war gewöhnliche rohe unerhitzte Milch zentrifugiert und Rahmschicht + Leukozyten ebenso verteilt, wie auch die resultierende Magermilch zur Untersuchung gezogen. Nach Zusatz von H_2O_2 und erfolgtem Umschütteln lieſs sich das Storchsche Reagens bei den Rahmverteilungen und dem Röhrchen mit Kasëinaufschwemmung wegen niedrigeren spez. Gewichtes nicht in gewohnter Weise aufschichten, sondern sank langsam zu Boden. Das Resultat war, daſs die bekannten Farbänderungen bei der unerhitzten Rohmagermilch und der unerhitzten Fettverteilung sofort energisch auftraten, während in den verschiedenen erhitzten Proben, der Kasëinverteilung im Wasser und der nicht abgerahmten erhitzten Milch erst nach Verlauf einer Stunde eine Spur von Reaktion erschien, die allerdings im Verlauf von 24 Stunden an Intensität zunahm. Mehrfach in gleicher Ausführung wiederholt wurden auch bezüglich des zeitlichen Eintretens immer dieselben Resultate erzielt; nach diesen Ergebnissen müssen wir aber doch bei den erzielten Reaktionen Unterschiede machen. Das sofortige Eintreten der Farbänderung bei Milchen, welche entweder gar nicht oder höchstens bis auf 68—69° erhitzt wurden, basiert auf einer anderen Grund-

lage, als bei den nach den französischen Autoren angeführten Untersuchungsweisen. Im ersten Falle handelt es sich ganz gewifs nur um die Einwirkung eines Enzyms, der Peroxydase, im zweiten Falle, wo wir erst nach einer Stunde Spuren von Farbänderung eintreten sehen, haben wir die schwache Reaktion dem Kaseïn einesteils, aber auch noch vorhandenen geringen Enzymresten zuzuschreiben, welche die H_2O_2-Zersetzung auslösen und durch Sauerstoffabgabe die bekannte blaugraue Färbung des Storchschen Reagens herbeiführen. Bei vielfacher Prüfung künstlich sterilisierter und keimfrei befundener Milch habe ich noch jedesmal Spuren einer Reaktion durch genanntes Reagens erzielt. Es kann eine verlangsamende Beeinflufsung in einer über 80° erhitzten Milch dann eintreten, wenn das Kaseïn sich mit einer dünnen Schicht gerinnenden Eiweifses überzieht und die Einwirkung von H_2O_2 hindert, aber Spuren von deutlicher Reaktion folgen stets.

Meine Versuchsanordnung war folgende:

1. Unerhitzte rohe Milch 15 Minuten zentrifugiert:

a) Abgeschiedene Fettschicht und Leukozytenabsatz in sterilem Wasser fein zerteilt . . . . b) Magermilch	mit Storchschem Reagens sofort kräftige Reaktion.

2. Rohe Milch zum Kochen erhitzt und nach zweimaligem Aufwallen abgekühlt und erkaltet, umgerührt zur Fettverteilung und dann gleichfalls zentrifugiert:

a) Fettschicht und Leukozytenabsatz wie oben verteilt . . . . b) Magermilch . . . . c) Kaseïnaufschwemmung in sterilem Wasser	mit Storchschem Reagens nach 1 Std. Spur von Reaktion, welche in 24 Std. zunimmt.

3) Unserem Vorrate entnommene sterilisierte Milch = Reaktion ganz genau wie bei 2.

Eine Beeinflussung der Anwendung der Storchschen Reaktionsmethode zur Unterscheidung roher und bis 68—69° erhitzter Milch gegenüber gekochter und sterilisierter Milch findet demnach durch die Mitteilung der genannten französischen Autoren nicht statt; es wurde im Gegenteil die Exaktheit dieser praktisch sehr wichtigen Methode aufs neue bestätigt.

Da Bordas und Touplain in ihrer Arbeit von einem Niederschlage sprachen, welchen sie bei der zentrifugierten Milch erhielten, ohne Angabe über dessen Bestandteile zu machen, so habe ich den bei der Nachprüfung ebenfalls erhaltenen Niederschlag geprüft und im mikroskopischen Präparate, wie nicht anders zu erwarten war, das normale Bild einer Milchleukozytenprobe gefunden, indem polynukleare Leukozyten mit Bakterien vermengt sich darboten. Siegfeld[1]) fand dagegen in dem Bodensatze einer Literbüchse homogenisierter und sterilisierter Milch nach 14 monatiger Aufbewahrung einen weifsen Niederschlag, welcher sich nach qualitativer und quantitativer Untersuchung als ein wesentlich aus dreibasich phosphorsaurem Kalk bestehend ansprechen liefs. Ob diesem Körper beim Eintreten der Storchschen Reaktion in sterilisierter Milch ein Einflufs zuzuschreiben ist, bedarf noch der Untersuchung.

Zum Schlusse von Abteilung II sei auf das Kapitel 1 — Enzyme — in Sommerfelds[2]) Milchkunde, verwiesen.

III. Aseptisch entnommene, jedoch nicht keimfreie Milchproben.

In diesem Abschnitte sollen nur diejenigen Resultate besprochen werden, welche bei der Untersuchung der nicht keimfreien Proben gewonnen, uns ein Bild der Beeinflussung der Enzymbildung durch Bakterien und Leukozyten geben, wie auch des bei hohem Leukozytengehalte sich vermindernden Säuregrades der Milch.

Wie an andrer Stelle gleichfalls betont, ist es wahrscheinlich, dafs wir bei den häufig in dieser Abteilung sich findenden äufserst geringen Mengen von 2—10 Keimen nur mit unvermeidbaren Verunreinigungen aus der Umgebung zu tun haben, und dafs solche Milchproben eigentlich als keimfrei zu bezeichnen wären. Absichtlich aber sollte in dieser Hinsicht äufserste Genauigkeit gewahrt werden. Auch sei darauf verwiesen, dafs bei der Entnahme von Proben der anwesende Tier-

1) Siegfeld, Milchw. Zentralbl. 1909, Heft 5, S. 208.

2) Sommerfeld, Milchkunde, 1909.

arzt keine bemerkenswerte Induration des Euters bei den zu melkenden Kühen konstatiert hat. Wir wissen aus der Literatur[1]), dafs Kühe in einem Kubikzentimeter Milch grofse Mengen von Streptokokken haben können und doch vollkommen gesund erscheinen, es mufs aber mit der Möglichkeit gerechnet werden, dafs in allen Fällen die »Milchstreptokokken« aus kranken Kuheutern stammen, wenn auch der Beweis dafür keineswegs erbracht ist (Ernst, S. 417).

Tabelle 8.

2. November 1908. Sterile Milchentnahme von einer Kuh, welche Stauungsmastitis hatte. Proben entnommen 2 Uhr 20 Min, im Institut 2 Uhr 30 Min. in Eispackung, woselbst sie bis zur Verarbeitung verblieben.

Art der Untersuchung	Zitze 1	Zitze 2	Zitze 3	Zitze 4
Laufende Nr.	5	6	7	8
Agarplatten mit 0,5 ccm und 1 ccm Aussaat	sämtliche Platten n. 18 Std. keimfrei. n. 42 Std. — 4864 Keime in 1 ccm	5968 Keime in 1 ccm	absolut keimfrei	2584 Keime in 1 ccm
Einsaat von 0,5 ccm Milch in Bouillon 48 Std. bei 37°	vereinzelte Staphylokokken, ferner wahrscheinl. Micrococcus tetragenes, keine Streptokokken	Kugelformen je 1, 2 u. 3 zusammenliegend, auch Tetraden, keine Streptokokken.	ganz vereinzelte Kugelformen	wie bei Zitze 1
Direkte Oxydasereaktion m. Guajatinktur B ohne H_2O_2	innerhalb 45 Minuten keine Farbänderung, ebenso nach 8 Stunden			
Diastase	alle vier Proben verhielten sich bei Zusatz von drei Tropfen löslicher Stärke gleichmäfsig, indem sie sich gelb färbten.			
Katalase	nach 18 Std. = 5 ccm. 2. Versuch mit der 6 Tage im Eis gestandenen Milch in 1 Std. = 2,5 ccm » 24 » = 4,6 »	1. nach 30 Min. = 5,6 ccm, sehr stürmisch. Einwirkung, ungenau. 2. Verdünnt 1 : 1 steril. Wasser ergibt in 1 Std. = 10 ccm	1. nach 18 Std. = 1,5 ccm 2. nach 6täg. Stehen in Eispackung in 1/2 Std. = 0,5 ccm » 24 » = 2 »	nach 18 Std. = 5 ccm
Säurezahl	3,6°	3,6°	6,4°	3,8°
Leukozytenmenge	in zehn Kubikzentimeter Milch 0,008 polynukleare Leukozyten in grofser Menge	0,03! sehr dicht gelagerte polynukleäre Leukozyten.	0,0015 sehr wenige Leukozyten	0,006 wie bei 1
Reduktase nach Smidt-Müller bei 37°	Methylenblau: n. 18 Std. 1/2 entfärbt Neutralrot: keine Spur Entfärb.	nach 1 Std. völlig entfärbt nach 18 Std. keine Spur Entfärbung	nach 18 Std. nicht entfärbt	nach 18 Std. eine Spur entfärbt nach 18 Std. nicht entfärbt.

1) Rullmann u. Trommsdorff, Arch. f. Hyg. 1906, Bd. 59, S. 252.

Mit der Besichtigung der Agarplatte beginnend, fiel die Gleichmäſsigkeit der entwickelten Kolonien auf; da ganz besonders bei Nr. 6 solches der Fall war und der hohe Befund an Katalase, welcher auch dem hohen Gehalt an Leukozyten (3 pro Mille) entsprach, die Möglichkeit zulieſs, hier einen Katalaseerreger zu finden, so wurden Reinzuchtversuche angestellt, die mit leichter Mühe den Beweis absoluter Reinheit ergaben. Dieser Stamm — Mikrokokkus 6 — wurde dann zu Versuchen des öfteren benutzt.

Hervorzuheben sind die Ermittelungen des Katalasegehaltes, der Leukozyten und der Säuregrade; bei Nr. 5, 6 und 8 zeigen sich bei den ermittelten Werten von Leukozyten uns hier ganz besonders bei Nr. 6 groſse Katalasemengen und geringe Säuregrade, während bei Nr. 7 die als normal zu bezeichnende Säurezahl den Gegensatz bildet und die Katalasemenge eine für keimhaltige Milch sehr geringe ist, allerdings muſs auch Nr. 7 nach dem negativen Ausfall der Plattenkultur und dem geringen Befund in der Bouillonkultur als keimarm bezeichnet werden.

Von dem aus Nr. 6 isolierten Mikrokokkus, welcher auf Gelatineplatten in 48 Stunden kleine, ganzrandige Kolonien bildet, kamen Bouillonaufschwemmungen zur Verwendung, welche dann zur Impfung sterilisierter Milch benutzt wurden. Zunächst kamen nach 48stündigem Belassen bei 37° C Versuche zur Ausführung, welche die optimale Temperatur und eventuelle Lichteinwirkung bei der Katalaseentwicklung klarstellen sollten. Von derartigen Röhrchen kam nach Zusatz der entsprechenden H_2O_2-Menge Nr. 1 wieder in den 37° Brutschrank, Nr. 2 wurde dem zerstreuten Tageslichte bei Zimmertemperatur mit Nr. 3 ebenso, jedoch vor Lichteinfluſs durch dunkles, undurchsichtiges Papier geschützt, ausgesetzt.

Nr. 1	ergab	in	1	Std.	2,6 ccm;	in	24	Std.	=	3,0 ccm
» 2	»	»	1	»	3,2 »	»	24	»	=	4,2 »
» 3	»	»	1	»	2,4 »	»	24	»	=	3,2 »

Wenn die ermittelten Differenzen auch gerade nicht sehr grofs sind, so scheint doch im Gegensatze zu Konings[1]) Beobachtungen, Zimmertemperatur in Verbindung mit zerstreutem Tageslicht zur Entwicklung von Katalase am geeignetsten zu sein, aber es kann dies auch vielleicht von der Verschiedenartigkeit der Katalaseerreger abhängig sein. Noch ein weiterer Versuch ist hier anzuführen; derselbe Mikrokokkus Nr. 6 war vom November 1908 an weiter gezüchtet worden, auf Grund inzwischen gemachter Erfahrungen säte ich ihn wieder in sterilisierte und als keimfrei befundene Milch ein und fand nun, dafs er in 24 Std. — 7 ccm Katalase entwickelte und Smidt-Müllersches Methylenblau in $1^1/_2$ Std. vollkommen entfärbte. So war damit festgestellt, dafs derselbe Mikrokokkus ebenso kräftig Katalase als auch Reduktase bildet, eine Tatsache, welche nach der mir vorliegenden Literatur[2]) bei Kugelformen noch nicht ermittelt wurde, obwohl eine grofse Anzahl Katalase und Reduktase bildender Stäbchenbakterien bekannt ist und gerade verschiedene Streptokokkenarten als nur Reduktase bildend bezeichnet werden. Jorns[3]) gibt in seiner Arbeit an, dafs die Katalasebildung eine fast allgemein verbreitete Fähigkeit der Bakterien sei, nur verhielten sich die einzelnen Arten sehr verschiedenartig. Bezüglich der Frage, ob die Zersetzungsfähigkeit des H_2O_2 an das Leben der Bakterienzelle gebunden ist, erfahren wir, dafs die Zelle eher zugrunde geht als die Fähigkeit der Kultur H_2O_2 zu zersetzen. So ermittelte auch dieser Forscher, dafs bakteriendichte Filter dem keimfreien Filtrat die Fähigkeit der H_2O_2 Zersetzung nicht nehmen, dafs aber von 55° C an die zersetzende Substanz in ihrer Wirksamkeit geschwächt wird, welches dann nach der Länge der Temperatureinwirkung und mit der Höhe der Temperatur zunimmt und bei 70° C bei halbstündiger Einwirkung zugrunde geht. Diese Leitsätze stimmen mit den vielfach gemachten Erfahrungen überein.

1) Koning, Milchw. Zentralbl. 1907, S. 245, 2. Abs.

2) Koning, Milchw. Zentralbl. 1907, S. 53 u. 242.

3) Jorns, Archiv f. Hygiene, 67, S. 144.

Bei den späteren Untersuchungen wurden mühelos noch mehrere beide Enzyme bildende Mikrokokkenarten isoliert; es sei aber hier schon darauf hingewiesen, dafs alle diese isolierten Stämme nicht zu den Säurebildnern gehörten, da sowohl die eingeimpften Reinzuchten bei 37° als auch die Milchreste, welche am Ende der Untersuchung aus der Eispackung entfernt, manchmal noch sehr lange bei Zimmertemperatur flüssig geblieben sind. Hier kann auch noch auf Seligmanns[1]) Beobachtung verwiesen werden, welcher fand, dafs eine längere Zeit dauernde Aufbewahrung von Milch in Eispackung keinen Verlust an Enzymen herbeiführt, ja sogar, dafs eine 5—6 Std. im gefrorenen Zustande gehaltene Milch nach dem Auftauen keinen geringeren Enzymgehalt aufwies. Auch hierüber folgen noch eigene Beobachtungen.

Die auf Tabelle 9 verzeichneten Milchproben sind teilweise als sehr keimarm zu bezeichnen; dem ermittelten, sehr geringen Leukozytengehalt entsprechen auch die festgestellten niedrigen Katalasemengen, eine Tatsache, welche sich noch häufig finden wird. Auffallend ist dagegen, wie gleichfalls noch mehrfach nachgewiesen wird, der gleiche Säuregrad bei Zitze 1 und 3 und Zitze 2 und 4, so dafs die Wahrscheinlichkeit des Zusammenhanges der Euterviertel derart, dafs das Euter in zwei seitliche, durch eine mittlere Scheidewand getrennte Hälfte zerfällt, in diesem Falle zum erstenmale zur Erscheinung kam.

Die Diastasemenge scheint in allen vier Zitzen dieselbe zu sein. Auch die Smidt-Müllersche Reduktaseprobe mit Methylenblau weist auf den geringen Keimgehalt hin, und wenn bei Probe 10 anzuführen ist, dafs auch nach 66 Stunden noch keine Spur Entfärbung eingetreten war, so zeigt solches das Fehlen farbstoffreduzierender Keime. Die Verwendung von Neutralrot bei dieser Reaktion unterbleibt von jetzt an, da sich nach den bisherigen Erfahrungen dieser Körper als zu schwer angreifbar erwiesen hat.

1) Seligmann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 50, 1. Heft, 1905.

Tabelle 9.

20. November 1908. Sterile Milchentnahme von scheinbar ganz gesunder Kuh. Probe entnommen 2 Uhr 35 Min.; im Institut 2 Uhr 45 Min. in Eispackung, woselbst die Milch bis zur Verarbeitung verblieb.

Art der Untersuchung	Zitze 1	Zitze 2	Zitze 3	Zitze 4
	Laufende Nr. 9	10	11	12
Agarplatten 1 ccm Aussaat	nach 48 Std. absolut keimfrei	nach 48 Std. = 580 Keime	nach 48 Std. = 164 Keime	nach 48 Std. absolut keimfrei
Bouillonkultur 1 ccm Einsaat	vereinzelte Pakete von Micrococcus tetragenes (?) nach 72 Std.	nach 72 Std. reichlich Diplokokken auch vereinzelt zu 3—4 Kugeln zusammen liegend	nach 72 Std. wie bei Nr. 9 aber zahlreicher	nach 72 Std. wie bei Nr. 10
Leukozyten	in zehn Kubikzentimetern Milch 0,001	0,001	0,001	0,001
Diastase + 2 / + 3 / + 5 Tropfen Stärkelösung	Bei allen Proben mit den wechselnden Mengen an zugesetzter löslicher Stärke trat zitronengelbe Färbung ein.			
Säuregrade	5,6°	5,0°	5,6°	5,0°
Katalase	in 1 Std. = 0,2 ccm » 18 » = 0,5 » 2. Versuch: Milch 18 Std. in Eis: 1 Std. = 0,15 ccm nach 6 » = 0,6 » 24 » = 0,7 »	in 1 Std. = 1 ccm in 18 Std. = 1,4 ccm	in 1 Std. = 0,5 ccm in 18 Std. = 1,5 ccm	in 1 Std. = 1 ccm in 18 Std. = 1,2 ccm 2. Versuch: Milch 18 Std. in Eis: 1 Std. = 0,8 ccm nach 6 Std. = 1,0 ccm 24 » = 1,3 »
Reduktase Smidt-Müller + Methylenblau	nach $1^1/_2$ Std. = θ entfärbt nach 66 Std. = eine Spur Entfärbung	nach $1^1/_2$ Std. = θ entfärbt nach 66 Std. = θ entfärbt	nach $1^1/_2$ Std. = θ entfärbt nach 66 Std. = völlig entfärbt	nach $1^1/_2$ Std. = θ entfärbt nach 66 Std. = zur Hälfte entfärbt.
+ Neutralrot	nach $1^1/_2$ Std = / nach 66 Std = } bei keiner Probe Entfärbungen.			

Nachdem die Proben 9, 10 und 12 vier Tage im Eise gestanden hatten, wurden sie nochmals der Smidt-Müller-Reaktion unterzogen, und da ergab sich, dafs Nr. 9 nach 48 Std. bei 37° ganz unverändert war, Nr. 10 eine ganz geringe Spur Entfärbung am Boden zeigte, während 12 vollkommen entfärbt war. Es ist hiernach im Vergleiche mit den aus Entnahmetage angestellten Reduktaseprüfungen zu folgern, dafs bei Nr. 9 die wenigen Keime ganz vernichtet waren, bei 10 dagegen eine geringe Weiterentwicklung statthatte und bei 12 eine wesentliche Vermehrung angenommen werden mufs. Wegen Materialmangel schied Nr. 11 aus. Diese drei Proben standen aber aus dem Eise entfernt vom 23. Nov. bis zum 25. Nov. bei Zimmertemperatur, waren flüssig geblieben und wurden nun auf Grund der eben angegebenen Reduktaseprüfung zur Anlegung von Plattenkultur verwendet. Hier ergab sich bei Aussaat von je 1 ccm, dafs Nr. 9 ganz keimfrei war, Nr. 10 und Nr. 12 hatten noch je 10 Keime, so dafs hierdurch die zweite Reduktionsprobe zu erklären sein wird, indem einzelne vorhandene Reduktasebildner sich erholten und die anderen Keime überwucherten. Dafs aber bei Nr. 10 der Anfangskeimgehalt von 580 in 1 ccm jetzt sich auf 10 gemindert hat, zeigt, ohne diesen Vorgang als bakteriziden bezeichnen zu wollen, dafs der Nährboden und die übrigen Lebensbedingungen jedenfalls nicht zusagend für die Weiterentwicklung waren. Ebensolche Gründe erklären es wohl, dafs dieselben Restproben, 17 Tage nach der Entnahme und bei 14 tägigem Stehen bei Zimmertemperatur noch flüssig, am 7. Dez. 08 abermals auf Reduktase geprüft nach 48 Std. bei 37° C nicht mehr entfärbten und jetzt alle reduzierenden Keime abgestorben waren.

Bei Prüfung der am Entnahmetag angelegten Agarplatten war besonders Nr. 11 auffallend; alle Kolonien waren gleichmäfsig ganzrandig, wetzsteinförmig und feuchtglänzend, jedoch nicht Gelatine verflüssigend. Nach Prüfung der aus einer isoliert liegenden Kolonie erhaltenen Reinzucht wurden wieder Röhrchen sterilisierter, keimfrei befundener Milch besät und 48 Std. bei 37° C belassen. In einer halben Stunde hatten sich

4,6 ccm und in 24 Std. — 5,6 ccm Katalase gebildet, während die Smidt-Müllersche Reduktaseprobe bereits in 32 Min. eine vollkommene Entfärbung zeigte.

Der isolierte Mikrokokkus ist Gram positiv und zeigt sich im mikroskopischen Bild in 3—4 Kugeln zusammenliegend. Für Mäuse ist diese Nr. 11 nicht pathogen.

Eine am 7. Dez. 1908 stattgehabte aseptische Entnahme von einer Kuh ergab folgende erwähnenswerte Resultate. Bei sehr geringem Keimgehalt fanden sich in den Leukozytenzentrifugatausstrichen weder im direkten Präparat noch in den angelegten Bouillonkulturen Streptokokken, dabei war der Leukozytengehalt bei Zitze 4 auf 0,8 pro Mille gestiegen und der Katalasegehalt aus dieser Zitze ergab in 18 Stunden 11 ccm; bei einer Probe aus Zitze 2 bei 0,6 pro Mille Leukozyten entwickelten sich in gleicher Zeit 8 ccm Sauerstoff. Zitze 1 und 2 dagegen haben nur 0,1—0,2 pro Mille Leukozyten, und dementsprechend bilden sich nur 5,4—5,9 Katalase. Noch eine andere Erscheinung erregt unsere Aufmerksamkeit, und auch hier findet sich ein Zusammenhang der seitlichen Zitzen, der sich aus nachstehender Aufzeichnung ergibt.

Tabelle 10.

Zitze	Leukozyten	Säuregrade	Zitze	Leukozyten	Säuregrade
1	0,001 in 10 ccm	7,6°	2	0,006 in 10 ccm	4,4°
3	0,002 » 10 »	7,6°	4	0,008 » 10 »	3,6°

Ebenso fallen die Säuregrade mit der Höhe des Leukozytengehaltes! Die übrigen Resultate ergaben nichts Besonderes; da aber noch genügendes Rohmaterial vorhanden war, so wurden die von Van Velde[1]) für Frauenmilch bestätigten Angaben Konings[2]), welche besagen, »dafs die Fett- und Rahmschicht der rohen Milch mehr Katalase als die davon befreite Magermilch enthalte« nachgeprüft. Hierzu entnahm ich von zwei

1) Van Velde, Sommerfeld, Milchkunde, Wiesbaden bei Bergmann 1909, S. 813, Tabelle.

2) Koning, Milchw. Zentralblatt 1908, S. 178.

Proben, welche nach 1/4 Std. durch Zentrifugieren deutlichste Abscheidung von Rahm und Magermilch erkennen liefsen, je eine Öse Rahm, welche in sterilisierte Milch eingesät und durch Verreiben fein verteilt war. Aus der Magermilch, von welcher ich tunlichst vorsichtig durch Abnehmen mit einem kleinen Löffel das Fett entfernt hatte, entnahm ich durch Einführen einer anfangs oben geschlossenen Pipette zur Fernhaltung von Fett je 0,5 ccm, welche gleichfalls in sterilisierte Milch kamen (gleiche Menge wie oben), und beliefs beide 48 Std. bei 37°.

Nachstehende Tabelle bringt die Ergebnisse:

Tabelle 11.

Nr. der Probe	Rahmkultur		Magermilchkultur	
	Katalase	Reduktase	Katalase	Reduktase
13	in 1/2 Std. = 0 in 24 Std. = 0,2 ccm	in 1 Std stark entfärbt in 24 Std. vollkommen entfärbt	in 1/2 Std. = 5,4 ccm in 24 Std = 6,4 ccm	in 1 Std. Spur entfärbt in 24 Std. die Hälfte entfärbt
14	in 1/2 Std. = 0 in 24 Std. = 0,5 ccm	in 1 Std. Spur entfärbt in 24 Std. ganz entfärbt	in 1/2 Std. = 4,2 ccm in 24 Std. = 5 ccm	in 1 Std. = 0 entfärbt in 24 Std. keine Spur Entfärbung

Diese Resultate stehen mit Konings Angaben im Gegensatz; hier haben wir die Reduktaseerreger in der Rahmschicht und die Katalaseerreger in der Magermilch.

Eine weitere Beobachtung aber sei hier angefügt; nämlich die Beantwortung der Frage, ob Katalasebildner auf originär keimfreie unerhitzte Milch nicht kräftiger einwirken als auf die mehrmals über 100° C erhitzte künstlich sterilisierte Milch. Im Besitze von den früher bei 11 erwähnten sterilen Milchproben 17 und 18 machte ich in dieselben und in sterilisierte Milch gleichmäfsige Einsaaten des Katalase-

erregers 6, und nach 48stündigem Belassen bei 37° C untersuchte ich:

Nr. 17	+	Erreger	6	gibt	in	16	Std.	10,5	ccm	Katalase
» 17	»	»	6	»	»	24	»	12	»	»
» 18	»	»	6	»	»	1	»	9,5	»	»
» 18	»	»	6	»	»	24	»	10	»	»
Sterilisierte Milch	»	»	6	»	»	1	»	5,4	»	»
» »	»	»	6	»	»	24	»	7	»	»

Wir ersehen hieraus, was ja auch leicht verständlich ist, dafs die infolge mehrfachen Erhitzens stark beeinflufsten labilen Bestandteile der sterilisierten Milch der Tätigkeit der Bakterien gröfseren Widerstand entgegensetzen.

Die folgende Tabelle 12 zeigt zum erstenmal bei Einsaaten von Milch in Bouillon die Gegenwart reichlicher Streptokokkenmengen.

Dafs wir laut Tabelle 12 diesmal von zwei Kühen Proben entnahmen, ist durch das störrische Verhalten des einen Tieres begründet, welches nur aus den Zitzen 2 und 4 Milch gab, da wahrscheinlich das Melken Schmerzen erregte; bei Kuh 2 aber fehlten genügend sterile Gefäfse zur Aufnahme, so dafs wir uns auch hier auf zwei Entnahmen beschränken mufsten.

Beide Proben waren von einwandfreiem Aussehen, und sei schon hier hervorgehoben, dafs die Nr. 27 und 28 nach 8tägigem Stehen bei Zimmertemperatur trotz nachgewiesenem Streptokokkengehalt noch flüssig waren.

Diesmal war die mikroskopische Prüfung der Bouillonkulturen der verschiedenen Einsaaten von hohem Interesse, da auf den entwickelten Platten von Nr. 25 und 26 sich wieder, wie schon häufig, ein einheitliches Bild bot. So ergaben die angelegten Bouillonkulturen nach 48stündigem Stehen bei 37° nur Diplokokken, nach weiteren 48 Std. aber boten dieselben das auf der Tabelle bezeichnete Bild reichlicher Massen von Streptokokken. Wir sehen hier also, wie der Erreger, ursprünglich nur in Diplokokkenform vorhanden, nach längerem Belassen in Bouillon in die Kettenform übergeht und die Zahl der ent-

Tabelle 12.
8. Februar 1909. Sterile Milchentnahme von zwei Kühen.
Entnahme 2 Uhr 30 Min., in Eis 3 Uhr.

Art der Untersuchung	Kuh Nr. 1. Zitze		Kuh Nr. 2. Zitze	
	2	4	2	4
	Laufende Nr.		Laufende Nr.	
	25	26	27	28
Agarplatten Aussaat 0,5 ccm	nach 42 Std. = 1630 Keime in 1 ccm	2670 Keime in 1 ccm	nach 42 Std. vollkommen steril	
Bouillonaussaat 0,5 ccm	Zahlreiche 4—6 gliedrige Streptokokkenketten	Ebenso, aber nicht so zahlreich wie bei Nr. 25	Sehr geringes Wachstum, vereinzelte Diplokokken, auch bis 4—5 zusammenliegend u. lange Streptokokkenketten	wie bei Nr. 27
Leukozyten	0,004 im Präparat keine Streptokokken	0,015 im Präparat ziemlich zahlreiche Streptokokkenketten	0,001	0,001
Katalase am 8. II.	in 1 Std. = 4 ccm » 18 » = 10 »	in 1 Std. = 5,6 ccm » 18 » = 8 »	n. 1 Std. = 0,6 ccm » 18 „ = 3,8 »	n. 1 Std. = 0,4 ccm » 18 » = 6,5 »
Katalase 6 Tage später (im Eise gestanden)	in 1 Std. = 8 ccm » 24 » = 10 »	n. 1 Std. = 8,4 ccm » 24 » = 11,5 »	n. 1 Std. = 0,8 ccm » 24 » = 3,6 »	n. 1 Std. = 1 ccm » 24 » = 5,8 »
Säuregrade	5°	5,6°	7,2°	7,4°
Reduktase Smidt-Müller	nach 1 Stunde = keine Änderung. » 18 Stunden = vollkommene Entfärbung		nach 18 Std. = keine Änderung nach 42 Std. = $^1/_2$ entfärbt	nach 1 Std. = keine Änderung nach 18 Std. = $^1/_2$ entfärbt nach 42 Std. = ebenso
Oxydase Paraph. d. Chlorhydrat ohne H_2O_2	nach 1 $^1/_2$ Stunden keine Farbenänderung.			
	nach 24 Std. = keine Änderung nach 48 Std. = geringe Spur blau-grau	nach 24 Std. = geringe Spur blau grau nach 48 Std. = wie bei 25.	nach 24 Std. = deutliche Reaktion	nach 24 Std. = deutlicher Ring
			nach 48 Std. = gleichmäßige blau-graue Färbung	
Wiederholt nach 6 tägigem Stehen in Eis	nach 1 Stunde geringe Reaktion nach 24 Stunden kräftige und noch zunehmende Reaktion mit Guajaktinktur A und B auch nach 24 Stunden keine Spur Reaktion.			

wickelten Kettenglieder als mehr oder minder lange Ketten von Umständen abhängt, welche Ernst[1]) in eingehendster Weise beschreibt. Wir entnehmen aus einer Zusammenstellung dieses Autors, dafs die Länge der Ketten förmlich mit der Leukozytenmenge oder der Sedimentmenge währt. Bei hohen Leukozytenwerten und kurzen Formen des Infektionserregers ist dieser häufig in aufserordentlicher Menge vorhanden. Es sei an dieser Stelle auf die sehr fleifsige und eingehende Arbeit Ernsts verwiesen, die gerade bezüglich der Differenzierungsmöglichkeit wesentliche Anhaltspunkte bietet. Die oben gemachten Erfahrungen, dafs u. a. in einer 48stündigen Bouillonkultur nur vorläufig Diplokokkenformen in Erscheinung treten, mahnen bei Abgabe eines Urteils über einen eventuellen Streptokokkengehalt einer Milch zur Vorsicht; diese Kulturen müssen immer nach 72 Std. nochmals untersucht werden.

Aus den bei 25 und 26 ermittelten Leukozytenmengen dürfte hervorgehen, dafs wir es in diesem Falle mit dem wirklichen »Galtstreptokokkus« zu tun haben, da auch die grofsen Katalasemengen für Streptokokkenmastitis sprechen; an dieser Stelle sei gestattet, auf die immer noch bestehende Schwierigkeit der Unterscheidung des das Milchversiegen verursachenden Streptococcus mastitidis gegenüber den saprophytischen Milchstreptokokken zu verweisen (s. Ernst, S. 447 ff.). Die Untersuchungen ergaben weitgehende Verwandtschaft der Mastitisgruppe mit den Milchstreptokokken, und es ist nicht zu bestreiten, dafs die saprophytischen Streptokokken u. a. krankmachende Eigenschaften annehmen können.

Die Prüfungen auf Katalase am Entnahmetag und nach 6tägigem Belassen in Eis haben nur bei Probe 26 eine allerdings wesentliche Zunahme ergeben.

Dann sei noch darauf hingewiesen, dafs dreimal der Nachweis der direkten Oxydase durch Paraphenylendiaminchlorhydrat ohne H_2O_2 ein positives Resultat ergab.

1) Ernst, Über Milchstreptokokken u. Streptokokkenmastitis. Monatshefte für praktische Tierheilkunde. Bd. XX, 9./10. Heft, S. 423 u. 424.

Eine am 19. Februar 1909 stattgehabte Entnahme, deren Einzelnheiten von geringerem allgemeinen Interesse sind, gab mir, da die ermittelten Keimmengen sehr niedrige waren, Veranlassung, auf V. Brudnys[1]) Arbeit insofern einzugehen, als ich, angeregt durch dieselbe, Milchproben obiger Entnahme mit festgestellter Keimzahl während mehrerer Tage unter wechselnden Temperaturen auf den schwankenden Keim- und Enzymgehalt, siehe Tabelle 13, prüfte. Leider war es mir nicht möglich, die von Brudny u. a. bei solchen Gelegenheiten beobachteten Formänderungen der betr. Bakterien zu studieren; der Versuch sollte nur vorläufig zur Orientierung dienen.

Dafs bei der vorausgehenden Untersuchung abermals ein Katalase- und Reduktasebildner (Stamm 29) isoliert werden konnte, sei nur angegeben; er bildete, in sterilisierte Milch eingesät, in 24 Std. = 7,2 ccm Katalase und reduzierte Methylenblau nach Smidt-Müller in 3 Std. 40 Min. vollkommen, während die ursprüngliche Probe 29 am Entnahmstage wohl, wie auf der folgenden Tabelle ersichtlich, Katalase aber selbst nach 42 Stunden keine Reduktase bildete. Eine Beobachtung, welche gleichfalls schon mehrfach gemacht wurde.

Die beiden folgenden Tabellen 14 und 15 bringen Ergebnisse aus einem Privatstalle P. bei München; im ersten Falle waren nur in einer Zitze Streptokokken zu ermitteln, während bei 15 alle Platten und Bouilloneinsaaten das ausgesprochen einheitliche Bild von Streptokokkenmastitis ergaben.

Wir ersehen zunächst aus Tabelle 14, dafs die angelegten Plattenkulturen mit 0,5 ccm Aussaat in zwei Fällen ergebnislos waren, und dafs auch die gröfseren Aussaatmengen von 2 ccm erst nach 66 Std. Resultate brachten; auch hier hat sich wieder die Zweckmäfsigkeit gleichzeitig angelegter Bouilloneinsaaten gezeigt.

Dem allgemeinen Befunde nach und besonders in Betracht der äufserst geringen Leukozytenmengen, welche nur bei Zitze 4 mefsbar war, haben wir es hier mit einer sehr reinen Milch zu

1) Brudny, Zentralbl. f. Bakteriol. 1908, Bd. 22, S. 193.

Tabelle 13.

Zusammenstellung der Beobachtungen der am 19. Februar 1909 entnommenen vier Milchproben am Entnahmetag, nach sechstägigem Stehen in Eis, zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur (+ 15°) und schliefslich bei 37°.

Lauf. Nr.	Art der Untersuchung	Am Entnahmetag	6 Tage in Eis	48 Std. bei Zimmertemperatur (+ 15° C)	48 Std. bei 37°
29	1. Keimzahl	216 in 1 ccm	Nicht ermittelt	60 Keime in 1 ccm	Nach 48 Std. = 5 Keime in 1 ccm
	2. Katalase	0,3 ccm in 42 Std.	0,2 ccm	Unmefsbar gering	48 Std. bei 37 = 10 ccm Katalase !
	3. Reduktase	0 nach 42 Std.	0	0	$^1/_3$ entfärbt
	4. Oxydase	Spuren	Spuren	Spuren	0
30	1. Keimzahl	42 in 1 ccm	Nicht ermittelt	18 Keime in 1 ccm	2 Keime in 1 ccm
	2. Katalase	0,2 in 42 Std.	0,4 in 48 Std.	Unmefsbar gering	Fehlte Material
	3. Reduktase	0 nach 42 Std.	0	0	0
	4. Oxydase	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
31	1. Keimzahl	480 in 1 ccm	Nicht ermittelt	4 Keime in 1 ccm	60 Keime in 1 ccm
	2. Katalase	0,5 ccm in 42 Std.	0,5 ccm in 48 Std.	Unmefsbar gering	Fehlte Material
	3. Reduktase	0	0	0	
	4. Oxydase	Spuren	Spuren	Spuren	
32	1. Keimzahl	20 in 1 ccm	Nicht ermittelt	2 Keime in 1 ccm	30 Keime in 1 ccm
	2. Katalase	0,1 ccm in 42 Std.	0,2 ccm	Unmefsbar gering	Fehlte Material
	3. Reduktase	0 in 42 Std.	0	0	
	4. Oxydase	Spuren	Spuren	Spuren	

tun, so dafs die ermittelten Katalasemengen u. U. als originär betrachtet werden können; und doch müssen wir in Probe 39 Streptokokken finden. Diese Tatsache erschien um so auffallender, als dem Tierarzte bei einem Stallbefunde von 16 Häuptern nur zwei Stück als »Streptokokkenkühe« bekannt waren. Wir werden aber bei Tabelle 15 sehen, dafs hier alle Zitzen

Tabelle 14.

5. Mai 1909. Sterile Milchentnahme von einer sehr reinlich gehaltenen und scheinbar gesunden Kuh aus einem Privatstalle P. in der Nähe Münchens. Am Entnahmeort sofort in Eispackung.

Art der Untersuchung	Zitze 1 Laufende Nr. 37	Zitze 2 Laufende Nr. 38	Zitze 3 Laufende Nr. 39	Zitze 4 Laufende Nr. 40
Agarplatten 1. zu 0,5 ccm	nach 42 Std. = 3 Keime in 1 ccm	nach 42 Std. = 0	nach 42 Std. = 0	nach 42 Std. = 4 Keime in 1 ccm
2. zu 2 ccm Aussaat	nach 66 Std. = 25 Keime in 1 ccm	nach 66 Std. = 2 Keime in 1 ccm	nach 66 Std. = 8 Keime in 1 ccm	nach 66 Std. = 50 Keime in 1 ccm
Bouillonkultur 1. 0,5 ccm	1. nach 42 Std. nur vereinzelte Kugelformen	1. nach 42 Std. = 0	1. nach 42 Std. = 0	1. nach 42 Std. = 0
2. 2 ccm	2. das gleiche Resultat	2. nach 66 Std. = Kugelformen, Diplokokken, viergliedrige Ketten, nach 90 Std. keine Streptokokken.	2. nach 66 Std. = 10—12 gliedrige Streptokokkenketten	2. nach 42 Std. = 0 nach 66 u. 90 Std. = wie bei Nr. 38
Leukozytenprobe	nur unmeſsbare Spuren			0,001
Säuregrade	fehlte Material			7,2°
Katalase	nach 1 Stunde nicht meſsbar in allen Proben.			
	nach 18 Std. = 1,4 ccm	1,4 ccm	1,2 ccm	2,8 ccm
	nach 42 Std. keine Zunahme		nach 42 Std. 1,4 ccm	nach 42 Std. = 3 ccm
	8 Tage in Eis: fehlte Material		nach 24 Std. = 1,6 ccm	nach 24 Std. = 2,5 ccm
Smidt-Müller Reduktase	nach 18 Std. keine Spur Entfärbung			
	nach 42 Std. = 0	nach 42 Std. = $^1/_2$ entfärbt, nach weiteren 24 Std. bei Zimmertemperatur vollkomm. entfärbt	nach 42 Std. = 0	nach 42 Std. Spur entfärbt nach weiteren 24 Std. bei + 15° etwa $^1/_4$ entfärbt
Peroxydase nach Storch + H_2O_2	fehlte Material		sofort blaugrau	sofort blau-grau
Schardinger + M.	fehlte Material	in 1 Stunde 26 Min. keine Entfärbung		
+ M. F.	fehlte Material	entfärbt in 6 Min.	entfärbt i. 8 Min.	entfärbt in 5 Min.

massenhaft diesen Infektionserreger bargen, und dafs trotzdem keinerlei Induration am Euter das Befallensein der Kuh anzeigten.

Jedenfalls aber bietet dieser Stall einen Beweis dafür, dafs bei mangelnder rechtzeitiger Erkenntnis des Übels und bei fehlender hygienischer Behandlung der Tiere durch das Melkpersonal ein Übertragen der Keime statthat, da hier bei Tabelle 14 wohl an eine direkte Übertragung zu denken ist, die sich im Anfangsstadium befindet. Wir werden auf diesen Stall nochmals in Abteilung VI zurückkommen.

Es sei gestattet, auf die folgende Tabelle 15 besonders hinzuweisen.

Die auf Tabelle 15 verzeichneten Ergebnisse sprechen für sich; wir haben es hier mit einer an Streptokokkenmastitis erkrankten Kuh zu tun, deren Euter aber dem untersuchenden Tierarzte noch keinerlei Verhärtungen zeigte. Alle gesteigerten Reaktionen, so vor allen Dingen die hohen Katalasewerte, sind durch den pathologischen Zustand der Milch zu erklären. Weitere Beispiele hierfür werden unter IV »Befunde pathologischer Milchproben« folgen.

Zur Ermittelung, ob und wie lange eine sorgsame Pflege in Verbindung mit strengen Reinlichkeitsmafsregeln Kühe ganz besonders von Streptokokkeneinwanderung freihalten können, untersuchten wir zwei Tiere vom Mustergute B, welche uns am 8. Juni 1909 aus allen acht Zitzen keimfreie Milch ergeben hatten, am 15. Juli 1909, also nach 5 Wochen, abermals. Trotz aller Vorsichtsmafsregeln waren jetzt nur noch drei keimfreie Proben im ganzen zu erzielen, deren Untersuchung auf Tabelle 6, Abteil. II zu ersehen ist, die anderen fünf Proben sind auf Tabelle 16 angegeben.

So müssen wir aus Tabelle 16 bei Kuh 6 in Probe 70 den Nachweis von vier bis siebengliedrigen feinen Streptokokkenketten ersehen u. a. annehmen, dafs diese, im Gegensatze zu den in Probe 74 gefundenen plumpen Streptokokkenketten, welche letztere sicherlich der äufseren Umgebung entstammen, bereits als Einwanderer in dem Zitzenkanal sich angesiedelt haben.

Tabelle 15.

18. Mai 1909. Sterile Milchentnahme von einer scheinbar gesunden und sehr sauber gehaltenen Kuh aus einem Privatstalle P. in der Nähe Münchens. Am Entnahmetag sofort in Eispackung.

Art der Untersuchung	Zitze 1	Zitze 2	Zitze 3	Zitze 4
	Laufende Nr. 41	42	43	44
1. Agarplatten a) 0,5 und b) 2 ccm Aussaat	nach 48 Stunden alle ziemlich dicht bewachsen			
	nach 24 Std. dicht bewachsen	nach 24 Std. etwas weniger dicht wie bei 41	nach 24 Std. wie bei 41	nach 24 Std. wie bei 42
2. Bouillon a) 0,5 und b) 2 ccm Aussaat	nach 44 Stunden in allen Präparaten Streptokokken			
	nach 20 Stunden in allen Präparaten grofse Streptokokkenmengen, ein vollkommen reines Bild von Streptokokken			
3. Leukozyten	in zehn Kubikzentimetern 0,004	0,006	0,009	0,005
4. Katalase	in 1 Std. 6,5 ccm in 24 Std. = 10 ccm	in 1 Std. = 6 ccm in 24 Std. = 8 ccm	in 1 Std. = 8 ccm in 24 Std. = 9 ccm	in 1 Std. = 2,8 ccm in 24 Std. = 9 ccm
5. Smidt-Müller Reduktase	in 4 Std. vollkommen entfärbt	in 8 Std. wie bei 41	in 1 Std. ganz entfärbt	in 4 Std. ganz entfärbt
6. Peroxydase + H_2O_2	Sofortige Blau-graufärbung			
7. Schardinger + Methylenblau	nach $^1/_4$ Std. entfärbt	nach 2 Std. nicht entfärbt.	in 1 Min. entfärbt	fehlt Material
+ Methylenblau Formalin	in 1 Min. entfärbt	in 5 Min. entfärbt	in 1 Min. entfärbt	fehlt Material
Äufsere Beschaffenheit der Milch und des Euters	Aussehen der Milch tadellos weifs. Am Euter keine Verhärtung bemerkbar			

Tabelle 16.
15. Juli 1909.

Art der Untersuchung	Kuh Nr. 6. Zitze		Kuh Nr. 81. Zitze		
	1	2	1	2	4
	Laufende Nr.		Laufende Nr.		
	69	70	73	74	76
Agarplatten 2 ccm Aussaat	nach 40 Stunden bei 37° C kein Wachstum nach 5 Tagen:				
	in 1 ccm : 5 Keime	in 1 ccm 5 Keime	in 1 ccm 3 Keime	in 1 ccm 44 Keime	in 1 ccm 35 Keime
Bouillonkultur 2 ccm Einsaat	nach 44 Std. Diplokokken und 3—4gliedrige Ketten	Diplokokken und 4—7gliedrige Streptokokken-ketten	genau wie bei 69	Diplokokken und plumpe Streptokokken-ketten	Diplokokken
Leukozyten	unmeſsbar geringe Spuren				
Katalase	nach 24 Stunden:				
	0,6 ccm	0,7 ccm	0,8 ccm	0,6 ccm	0,4
Schardinger-Reaktion + MF	in 8 Minuten entfärbt	in 5 Minuten entfärbt	in 5 Minuten entfärbt	in 8 Minuten entfärbt	fehlte Material
Smidt-Müller Reduktase	nach 40 Stunden keine Entfärbung				
	am 8. Tage entfärbt	am 9. Tage entfärbt	am 9. Tage etwas entfärbt	am 5. Tage vollkommen entfärbt	am 6. Tage beginnt Entfärbung
Hydrogenase am Entnahmstage	0	0	0	0	0
In 8 Tage alter Milch	0	Deutliche Reaktion	0	Deutliche Reaktion	

Tabelle 17.

8. Juli 1909. Sterile Milchentnahme von zwei als vollkommen gesund bezeichneten Kühen des Gutes F. bei München. Sofort in Eispackung und bis zur Verarbeitung darin verblieben.

Art der Untersuchung	Kuh Nr. 3. Zitze				Kuh Nr. 29. Zitze			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	Laufende Nr.				Laufende Nr.			
	61	62	63	64	65	66	67	68
Agarplatten 2 ccm Aussaat	nach 20 Stunden in keiner Probe Entwicklung von Keimen nach 44 Stunden in keiner Probe Keime					Nach 20 Std. = 2 Keime in 1 ccm	Nach 20 Std. = 18 Keime in 1 ccm	Nach 20 Std. = 500 Keime
	Nach 72 Std. = 5 Keime in 1 ccm	Nach 72 Std. = 40 Keime in 1 ccm	Nach 72 Std. = 50 Keime in 1 ccm	Nach 72 Std. = 210 Keime	Nach 72 Std. 25 Keime in 1 ccm			
Bouillonkultur Einsaat 2 ccm	nach 96 Stunden bei 37° C:							
	Hauptsächlich Diplokokken und vereinzelte 3—4 gliedrige Ketten	Diplokokken 12 gliedrige Streptokokkenketten	Diplokokken und kurze Stäbchen	Wie bei 63	Diplokokken und lange Streptokokkenketten	Diplokokken kurze 3—4 gliedrige Ketten	Diplokokken 6—8 gliedrige Streptokokkenketten	Wie bei 67
Leukozyten	0,001	unmeſsbare Spuren		0,002	0,001	unmeſsbare Spuren		
Katalase	1 Std. = 0,2 ccm	0,6 ccm	0,1 ccm	5,5 ccm	0,4 ccm	0,3 ccm	0,1 ccm	6,7 ccm
	2 Std. = 1 ccm	1,2 »	1,8 »	8,2 »	1,0 »	0,8 »	1 »	2 »
	20 Std. = 2 ccm	2 »	2,8 »	10 »	1,2 »	1,2 »	1 »	4,6 »

Schardinger-Reaktion + M F	in 9 Min. entfärbt		In 11 Minuten entfärbt	In 7 Minuten entfärbt	In 11 Minuten entfärbt	In 10 Minuten entfärbt	in 11 Min. entfärbt	
Smidt-Müller Reduktion	In 20 Std. $^1/_2$ entfärbt In 96 Std. vollkommen entfärbt	In 96 Std. nicht entfärbt	Wie Nr. 62 nicht entfärbt	In 20 Std. $^1/_2$ entfärbt, in 44 Std. wieder vollkommen blau u. nach 96 Std. ebenso	Nach 96 Std. vollkommen entfärbt	Nach 96 Std. nicht entfärbt	Nach 96 Std. vollkommen entfärbt	Nach 44 Std. vollkommen entfärbt
Peroxydase + H_2O_2 nach Storch	ohne Paraffinölüberschichtung sofort kräftige Reaktion				in Paraffinölschicht hineingemolken sofort kräftige Reaktion von gleicher Stärke			
Hydrogenase nach 5 tägigem Stehen	0	0	fehlte Material		Deutliche Reaktion	Deutliche Reaktion	fehlte Material	
Salolase	0	0	0	0	0	0	0	0

Sollte dieses sich so verhalten, so zeigen die unmeſsbaren Spuren von Leukozyten, die ebenso gering als wie auf Tabelle 6 sind, und die niedrigen Katalasewerte, daſs ein schädigender Einfluſs noch nicht statthatte, und es muſs an dieser Stelle abermals betont werden, daſs selbstverständlich nicht jedem Streptokokkennachweise auch eine Mastitis folgen muſs. Die Nachweise seien nur deutliche Fingerzeige und Mahnungen zu erhöhter Reinlichkeit und Pflege der Kühe.

Wir dehnten dann unsere Untersuchungen auf ein anderes groſses Gut F aus, welches allerdings nicht die jede Verunreinigung bei der Defäkation der Tiere ausschlieſsende moderne Stallanlage hat.

Aus Tabelle 17 müssen wir sofort ersehen, daſs zwei als gesund bezeichnete Kühe Streptokokken haben, und die gleichfalls im Abschnitte VI folgenden Tabellen von diesem Gute, in welchen der gröſste auch als gesund bezeichnete übrige Teil des Viehstandes nur auf Leukozyten und Streptokokken untersucht worden ist, weisen auf die weitgehende Verbreitung derselben hin.

Aus Tabelle 17 ist ersichtlich, daſs die meisten gefundenen Werte sich in niedrigen Grenzen halten, und so ist es erklärlich, daſs hier der prüfende Tierarzt nichts Verdächtiges ermitteln konnte. Trotzdem finden sich viermal lange Streptokokkenketten, und nur bei den Proben 64 und 68 zeigen die gröſseren Katalasemengen von 10 und 4,6 ccm, daſs wahrscheinlich ein pathologischer Prozeſs im Gange ist.

Die wachsenden Zeiten bei der Entfärbung der Schardingerschen MF-Reaktion beweisen abermals das ungleiche Eintreten dieser schwer erklärbaren und auf verschiedenen Ursachen beruhenden Reaktion, auf welche unter V noch ausführlich eingegangen wird.

Auf das nach fünftägiger Verwahrung im Eise eingetretene Erscheinen der Hydrogenasereaktion in zwei Fällen sei noch verwiesen.

IV. Pathologische Milch; Leukozyten resp. Leukine.

Bei der von einem euterkranken Tiere stammenden Milch war aufser dem gelblichen Aussehen der durch Zentrifugieren ermittelte niedrige Fettgehalt auffallend; eine Erscheinung, welche in ähnlichen Fällen von Schaffer, v. Hefs, Fleischmann u. a. beobachtet worden ist.

Bei den direkten Ausstrichpräparaten des an Leukozyten überreichen Zentrifugates, welches massenhaft im Zerfall begriffene polynukleäre Formen ergab, und der Milch selbst, kam die früher bei hohem Leukozytengehalte konstatierte und des öfteren wiederkehrende Erscheinung zutage, dafs das gebildete Leukin die Streptokokken in ihrer gröfsten Menge vernichtet oder mindestens geschädigt hatte, da solche in den direkten Präparaten nicht auffindbar waren; Einsaaten in Bouillon aber zeigten nach 48 Std. bis 37° mehr oder minder lange (bis zwölfgliedrige) Ketten. Ganz besonders trat dieses bei dem ganz abnormen Leukozytengehalt von Nr. 22 und 24 ein.

Dafs bei dieser Entnahme der Katalasegehalt bei den Nr. 21, 22 und 24 ein aufsergewöhnlicher und nur durch Verdünnen annähernd genau zu bestimmender war, darf nicht auffallen, sondern ist bei pathologischer Milch vielfach beobachtet, weist doch auch Koning[1]) ganz besonders auf diese Tatsache hin; die nur Stauungsmastitis zeigende Zitze 3 = Nr. 23 hat dagegen einen geringen Katalasegehalt.

Die gleichfalls wegen der vorhandenen Gelbfärbung der Milch nur durch Verdünnen 1 : 1 ermittelbaren Säuregrade, welche der Genauigkeit halber zweimal festgestellt wurden, zeigen aufser ihrer äufserst geringen Höhe wieder einen so auffallenden Zusammenhang der seitlichen Zitzen, dafs eine in Ellenberger und Baum[2]) sich findende Bestätigung sehr willkommen war.

---

1) Koning, Milchw. Zentralbl. 1908, S. 173, unterster Satz.
2) Ellenberger und Baum, Berlin Hirschwald, 1903, S. 570.

Tabelle 18.

13. Januar 1909. Sterile Milchentnahme von einer Kuh, welche in drei Zitzen ausgesprochene Streptokokken- und in einer Zitze Stauungsmastitis hatte. Entnahme 3 Uhr 30 Min.; in Eispackung 4 Uhr.

Art der Untersuchung	Zitze 1	Zitze 2	Zitze 3	Zitze 4
Fortlaufende Nr.	21	22	23	24
Agarplatten 0,5	nach 42 Std. 604 Keime in 1 ccm	mit Sicherheit wegen des abnormen Leukozytengehaltes nicht zählbar	in 42 Std. 880 Keime in 1 ccm	wie bei 22 unzählbar
Bouilloneinsaat 0,5 ccm	nach 42 Std. kurze und längere Streptokokkenketten	wie bei 21, nur sind die Streptokokkenketten weit zahlreicher	Diplokokken, keine Streptokokken sichtbar	wie bei 22
Leukozyten	0,017	Die Leukozytenmengen sind so bedeutend, dafs volumetr. Messung in Trommsdorffröhrchen unmöglich; in 100 ccm = 13 ccm	0,002	wie bei 22 in 100 ccm = 15 ccm
Katalase	sehr stürmische Entwicklung; in 10 Min. = 8 ccm; mit sterilem Wasser 1 : 4 verdünnt in 24 Std. = 36 ccm	wie bei 21; verdünnt 1 : 4 in 24 Std. = 38 ccm	in 16 Std. = 5,4 ccm in 24 Std. = 5,6 ccm	wie bei 21; verdünnt 1 : 4 = 48 ccm
Säuregrade	3,0°	1,8°	3,8°	1,8°
Reduktase Smidt-Müller	nach $^{3}/_{4}$ Std. beginnt Entfärbung, in 48 Std. die Hälfte entfärbt	in $^{1}/_{2}$ Std. fast entfärbt; in 45 Min. nur noch ein oberflächlicher Ring	in 48 Std. nur ganz geringe Entfärbung	wie bei 22
Direkte Oxydase durch Paraphenylendiaminchlorhydrat ohne H_2O_2	nach 48 Std. keine Spur Bläuung	nach 18 Std. keine Einwirkung nach 42 Std. = violettblaue Schicht	nach 18 Std. leichte Spur von Violett-Blau, nicht zunehmend	wie bei 22
2. Aussaat auf Agarplatten von 22 ccm 24	unterlassen, weil Keimgehalt ermittelt	am 22. 1. 1909, also neun Tage nach Entnahme Aussaat 0,05 ccm; nach 24 Std. ganz vereinzelte Keime, nach 48 Std. = 530 Keime in 1 ccm	wie bei 21	wie bei 22 nur ganz vereinzelte Keime nach 24 Std., nach 48 Std. = 350 Keime in 1 ccm

Diese Autoren gaben an: »daſs zwischen den Euterhälften Verbindung besteht, wird durch die vergleichende Anatomie bewiesen, indem das Euter in zwei seitliche, durch eine mittlere Scheidewand getrennte Hälften zerfällt. Eine Querteilung dieser beiden Hälften in Viertel, die man als für sich bestehende Milchdrüsen anzusprechen hat, ist anatomisch dagegen nicht nachzuweisen«. Es ist also auf diese Weise der seitliche Zitzenzusammenhang auch biologisch bewiesen worden.

Die ganz abnorm niedrigen Säuregrade der leukozytenreichsten Proben veranlaſsten zur Prüfung des Einflusses einer solchen Milch auf sterilisierte, keimfreie Milch, da es ja denkbar wäre, daſs ein Alkalibildner die Ursache zu dieser Erscheinung gäbe. Vor Eingehen auf diesen Versuch ist der jetzige Standpunkt unserer Kenntnisse der chemischen Natur der Leukozytenstoffe etwas zu erörtern. Aus einer der neuesten Arbeiten auf diesem Gebiete von R. Schneider[1]) ersehen wir, daſs die Leukozytenstoffe in schwach saurer wie in schwach alkalischer Lösung ihre Wirkung entfalten. Hier finden wir auch ausführliche Versuche über die keimtötenden Stoffe der Leukozyten, und die aus ihnen hergestellten Digeste beweisen, daſs auch durch weitgehende Enteiweiſsung die Stärke des Leukozytendigestes nicht beeinträchtigt wird. Aber auch diese neuesten Versuche geben noch kein abschlieſsendes Urteil über die Natur der fraglichen wirksamen Substanz. Ungeschwächt passieren die Digeste das Berkfeld-Filter; auch eine Erhitzung auf 55—60° C verursacht nur eine Trübung und Bildung eines Niederschlages, doch tritt keine Schädigung der Wirksamkeit ein. Die Leukozytenstoffe zu den Enzymen zu rechnen, glaubt Schneider im Gegensatz zu Petterson[2]) als nicht genügend bewiesen ansehen zu sollen, und von dem proteolytischen Ferment der Leukozyten hat Jochmann[3]) nachgewiesen, daſs es abgetötete

1) R. Schneider, Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebeflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leukozyten. Archiv für Hygiene 1909, Bd. LXX, S. 121 u. ff.

2) Petterson, Zentralbl. f. Bakt. I, 1908, S. 406 u. 408.

3) Jochmann, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. 61, Seite 71.

Bazillen wie eine Fibrinflocke verdaut, lebende dagegen nicht. Auch an dieser Stelle wird von R. Schneider angeführt, dafs die Leukozyten bei der Digestion reichlich bei Zusatz von H_2O_2 Sauerstoff abgeben, eine Tatsache, welche unsere verschiedenartigen Versuche des öfteren bewiesen haben. Am Schlusse der vorliegenden Arbeit wird mehrmals hierauf zurückzukommen sein.

Oben angedeuteter Versuch wurde in der Weise ausgeführt, dafs von der leukozytenreichen Milch Nr. 22 nach Umschütteln 1 ccm in 10 ccm Bouillon eingesät und 48 Std. bei 37° verblieb. Absichtlich sollten durch Umschütteln möglichst grofse Leukozytenmengen zur Einwirkung gelangen; ein nach dieser Zeit hergestelltes Präparat ergab reichlichstes Wachstum von Streptokokken. Von zwei Erlenmeyerkölbchen mit je 50 ccm sterilisierter, keimfreier Milch wurde das eine mit einem Kubikzentimeter der erwähnten Bouillonkultur geimpft und das zweite unbesät zum Vergleiche 72 Std. bei 37° belassen.

Die besäte Milchkultur ergab 24,4° Säuregrade (Soxhlet-Henkel), die unbesäte 7,6°, welch letztere Zahl dem normalen Säuregrade entspricht.

Dann kam noch der aus Nr. 22 isolierte Streptokokkenstamm in gleicher Weise zur Untersuchung; hier ergaben sich bei der besäten Milch 26,6 Säuregrade und die unbesäte zeigte die auch als normal zu bezeichnende Zahl von 7°.

Diese Versuche zeigen, dafs die Leukozytenmengen, deren direkte mikroskopische Prüfung keinen Streptokokken mehr erkennen liefsen, doch noch entwicklungsfähige Keime enthielten, die in unserem Falle eine sehr energische Säurebildung herbeiführten und anderseits, wie auf Tabelle 18 angeführt, entsprechend der vorerwähnten Schneiderschen Arbeit, grofse Katalase- resp. Sauerstoffmengen entwickelt haben.

In welcher Weise bei Streptokokkenmastitis und bei Vorhandensein so abnormer Leukozytenmengen die niedrigen Säuregrade zu erklären sind, bedarf noch der Erörterung, wenn wir auch schon wissen, dafs jedenfalls die Mastitisbakterien den

Stoffwechsel der sezernierenden Zellen ändern; Plaut[1]) hält deswegen die Bestimmung der Säuregrade bei der Milch einzelner Kühe behufs Feststellung ihres Gesundheitszustandes (Stoffwechselanomalien, Eutererkrankung, Tuberkulose) für angezeigt.

Dafs aber selbst bei den hohen, durch Impfung des Streptokokkenstammes Nr. 22 erhaltenen Säuregraden die Milch noch flüssig blieb, wird durch die Angabe von Soxhlet-Henkel[2]) erklärt, nach welchen zur freiwilligen Gerinnung der Milch 32 Säuregrade erforderlich sind.

V. Zur Schardinger-Reaktion.[3])

Bei den Untersuchungen, über welche in dieser Abhandlung berichtet wird, habe ich mich neuerdings[4]) davon überzeugt, dafs sowohl sehr keimarme, als auch vollkommen keimfreie Milch die Schardingersche Reaktion gibt, indem sie eine bestimmte Mischung von Methylenblau und Formaldehyd bei der Temperatur von 45—50° binnen wenigen Minuten entfärbt. Der Keimgehalt der Milch spielt also dabei keine Rolle.

Es ist mir wieder aufgefallen, dafs die verschiedenen Proben frischer Milch merklich verschieden lange Zeiten zur vollständigen Entfärbung der Schardingerschen Lösung benötigen. Ich gebe hier ein Beispiel, welches mir deshalb besonders interessant zu sein scheint, weil es sich um die gleichzeitig gemolkene Milch aus den vier Zitzen einer und derselben Kuh handelt.

---

1) H. C. Plaut, Archiv für Hygiene 13, 1891, 133—172.

2) Soxhlet-Henkel, Chemisches Zentralblatt (3. Folge) 18, 1887, S. 229.

3) Schardinger, Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genufsmittel 1902, V, 1113.

4) Rullmann, ebenda, 1904, II, S. 1 ff.

Tabelle 19.
Aseptische Entnahme von einer Kuh, welche einige Tage nicht gemolken war.

Art der Untersuchung	Zitze 1	Zitze 2	Zitze 3	Zitze 4
Laufende Nr.	33	34	35	36
Agerkultur 5 Tage alt	1 ccm Milch enthält keinen Keim auf der Platte	1 ccm Milch enthält 6488 Keime auf der Platte	1 ccm Milch enthält sechs Keime auf der Platte	1 ccm Milch enthält keinen Keim auf der Platte
Leukozyten in 10 ccm	0,003	0,002	0,005	0,001
Katalase nach 42 Std.	2 ccm	4,2 ccm	1,2 ccm	1,4 ccm
Schardinger-Methylenblauformalinlösung	entfärbt in 8 Minuten	entfärbt in 7 Minuten	entfärbt in 13 Minuten	entfärbt in 7 Minuten

Schern hat, wie schon im Abschnitt II erwähnt, die Beobachtung gemacht, daſs die Milch altmelkender Kühe anders reagiert, als die frischmelkender. Das vorstehende Beispiel zeigt, daſs auch die verschiedenen Euterviertel gleichzeitig verschieden reagierende Milch produzieren können. Worin dies begründet ist, bleibt vorläufig unbekannt. Daſs der Gehalt der Milch an Leukozyten, an Keimen und an Katalase darauf keinen Einfluſs hat, geht aus der Tabelle hervor; man vergleiche die Nummern 33, 34 und 36.

Das Wesen der Reaktion ist trotz der zahlreichen Untersuchungen verschiedener Autoren, von denen aus der letzten Zeit Koning[1]), Seligmann[2]), Trommsdorff[3]), Oppenheimer[4]), Brand[5]), Smidt-Müller[6]) genannt seien, noch immer nicht völlig aufgeklärt.

1) Koning, Milchw. Zentralbl. 1907, S. 49 ff.
2) Seligmann, in Sommerfelds Milchkunde, 1909, S. 317 ff.
3) Trommsdorff, Zentralbl. f. Bakt. I, 1909, Bd. XLIX, S. 292 ff.
4) Oppenheimer, kgl. Inst. f. Exp. Ther., Frankfurt a. M., H. 4, 1908, S. 75.
5) Brand, Münch. med. Wochenschr., 1907, Nr. 17.
6) Smidt-Müller, Hyg. Rundschau, 1904, S. 1137.

Dafs dabei ein Enzym mitwirkt, ist wohl sicher, da eine Milch, welche durch einige Zeit auf Temperaturen über 70° C erhitzt worden ist, die Reaktion in der gewohnten Zeit nicht mehr gibt, während die Reaktion entweder gar nicht oder nur um ein geringes (bis zu zwanzig Minuten) verzögert wird, wenn die Erhitzung über 68—70° C nicht hinausging.

Ich habe nun aber die Beobachtung gemacht, die meines Wissens bisher von keinem Autor erwähnt wurde, dafs man auch noch mit Milch, die mehrmals auf mehr als 100° C erhitzt worden ist, also wohl sicher von allen Enzymen befreit ist, Entfärbung der Schardingerschen Methylenblauformalinlösung bei 45° bis 50° C erhält, wenn man die Erhitzung nur lange genug fortsetzt.

Die Ursache, dafs die Entfärbungszeiten auch hier, und zwar recht stark differieren, liegt jedenfalls in der Milchbeschaffenheit selbst. Wenigstens habe ich mich davon überzeugt, dafs die untersuchten sterilisierten Milchproben wirklich in allen Fällen keimfrei waren und keine Enzyme (Katalase) mehr enthielten, dafs die Zeit, welche nach der Sterilisierung vergangen ist, keinen Einflufs ausübt[1]), und dafs auch nicht etwa Alkali aus der Glasmasse dabei im Spiele ist. Die Verschiedenheiten der Reaktionsdauer blieben bestehen, nachdem Reagenzröhrchen verwendet wurden, die mit verdünnter Salzsäure und Lauge ausgekocht und hinterher aufs sorgfältigste mit Wasser ausgespült worden waren.

Die Entfärbung durch hocherhitzte, sterilisierte Milch wird durch thermostabile Stoffe herbeigeführt. Es liegt nahe, daran zu denken, dafs diese Stoffe auch bei der eigentlichen Schardingerschen Reaktion mitwirken, und dafs es sich bei dieser um eine kombinierte Wirkung von Enzym- und anorganischen Salzen handelt, ähnlich wie bei den Oxydasewirkungen nach den Forschungen von Bertrand[2]).

---

1) Sterilisierte Milch, welche 3 Wochen lang aufbewahrt worden war, entfärbte innerhalb derselben Frist, wie unmittelbar nach dem Sterilisieren.

2) Bertrand, sur l'intervention du manganese dans les oxydations provoquées par la laccase. Comptes rend. 1897, 124, 1032.

Wenn man mit der Temperatur in die Höhe geht, entfärbt auch die hocherhitzte, sterilisierte Milch in verhältnismäſsig kurzer Zeit; so trat bei meinen Versuchen Entfärbung ein bei 60° C binnen 57 Minuten, bei 95° C in 11 Minuten.

Daſs keimfreie Milch die Methylenblauformalinlösung rasch entfärbt, ist bekannt, doch hat dies mit der Schardinger-schen Reaktion sicher nichts zu tun. Dies geht daraus hervor, daſs diese Entfärbung auch dann eintritt, wenn man vorher sterilisierte und dadurch von ihren eigenen Enzymen befreite Milch nachträglich infiziert, und daſs keimreiche, sterilisiert gewesene Milch nicht allein das Methylenblauformalingemisch, sondern auch Methylenblaulösung für sich allein entfärbt, was keimfreie Rohmilch niemals tut.

Vielleicht wird man bei der künftigen Erklärung der Schardingerschen Reaktion auch noch eine andere von mir gemachte Beobachtung heranziehen können. In gewissen Fällen tritt nämlich auch dann Entfärbung ein, wenn man das Formaldehyd durch eine äquivalente Menge Ameisensäure (153,3 Teile Ameisensäure = 100 Teile Formaldehyd) ersetzt. Dies deutet darauf hin, daſs auf Kosten des Sauerstoffs in Methylenblau die Oxydation des Formaldehyds noch über Ameisensäure hinaus bis zur Bildung von Kohlensäure getrieben werden kann. Allerdings erfordert die Entfärbung der Methylenblauameisensäurelösung erheblich längere Zeit als die der Methylenblauformalinlösung. So z. B.

Tabelle 20.

Milchart	Methylenblauformalinlösung	Methylenblauameisensäurelösung
Keimfreie Rohmilch Nr. 33	entfärbt in 8 Minuten	entfärbt nicht in 1 Std. 15 Minuten
Keimarme Rohmilch Nr. 35	› › 13 ›	entfärbt nicht in 1 Std. 15 Minuten
Keimarme Rohmilch Nr. 36	› › 7 ›	entfärbt nicht in 1 Std. 15 Minuten
Sterilisierte Milch	› › 1 Std. 12 Minuten	entfärbt in 1 Std. 40 Min.

Einen gewissen Einfluſs auf den Ablauf der Schardingerschen Reaktion üben geringe Mengen von Basen (z. B. $^{1}/_{1000}$). Hierüber soll später berichtet werden.

Zum Schlusse sei erwähnt, daſs Milch von euterkranken Kühen häufig von normaler sehr abweichend nach Schardinger reagiert. So z. B. eine Milchprobe von einer an Streptokokkenmastitis leidenden Kuh frisch entnommen, entfärbt die Schardingermischung bei 45—50° C in einer Minute, nach Konservierung mit Chloroform binnen sieben Minuten.

Eine zweite derartige Milch gibt positive Schardingersche Reaktion binnen anderthalb Minuten; diese Milch enthielt 35‰ Leukozyten, reagierte auf Lackmuspapier deutlich blau, besaſs eine Säurezahl (Henkel-Soxhlet) von 1,8° und entwickelte bei der Katalasereaktion binnen einer halben Stunde drei Kubikzentimeter Sauerstoff.

VI. Zur Mastitisfrage.

In seiner schon erwähnten, sehr lesenswerten Abhandlung »Über Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis« hat W. Ernst berechnet, daſs die deutsche Landwirtschaft durch die Mastitis der Kühe einen Produktionsausfall von fortlaufend 10% der Milch im Werte von 250 Millionen Mark erleidet. Diese Zahlen verdeutlichen, wie wichtig es ist, die Mastitis zu erkennen und ihre Ausbreitung zu verhindern. Wie weit die Verseuchung der Ställe durch diese Krankheit gehen kann, habe ich neuerdings bei der Untersuchung des Tierbestandes eines kleinen Stalles in der nächsten Nähe von München erfahren. Der Stall ist niedrig, ungenügend hell und primitiv eingerichtet, das Melkgeschäft wurde ohne jede Vorsichtsmaſsregel, wie Waschen der Hände jedesmal vor und nach dem Melken einer Kuh vorgenommen. Eine erhebliche Anzahl der vorhandenen Tiere war vom Tierarzte auf Grund der Untersuchung des Euters als wahrscheinlich euterkrank bezeichnet worden. Dreizehn Kühe sollten nach Aussage des Besitzers gesund sein. Bei sieben versagten jedoch einzelne Zitzen wegen

eingetretener Agalaktie vollständig und bei drei Kühen betrug der Leukozytengehalt nach Trommsdorff zwischen 1 und 3 Tausendstel; die Milch mit letzterem Gehalte hatte eine deutlich gelbliche Farbe.

Nunmehr interessierte es mich hauptsächlich festzustellen, ob die präzise Anwendung prophylaktischer und hygienischer Mafsregeln einen wesentlichen Einflufs auf die Beschaffenheit der Milch bezw. auf die Frequenz der Mastitis erkennen läfst oder nicht? Zu diesem Behufe untersuchte ich zunächst die Milch einer Anzahl beliebig ausgewählter Kühe in den Ställen des schon mehrmals erwähnten Mustergutes B. Diese Ställe entsprechen allen modernen Anforderungen der Hygiene und sind nach den holländischen und österreichischen Mustern ausgeführt, von denen uns Schlofsmann[1]) in Sommerfelds Milchkunde Abbildungen gebracht hat. Insbesondere sei hervorgehoben, dafs die Tiere in sog. Kurzständen stehen, welche ihre Beschmutzung durch die Fäkalien verhindern. Es herrscht in diesen Ställen die gröfste Sauberkeit nach jeder Richtung und das Melkgeschäft wird durch erprobtes, auf seine eigene Gesundheit kontrolliertes Personal sehr sorgfältig bewirkt. Die Tiere kommen im Sommer eigentlich nur zum Melken in den Stall und auch bei schlechtem Wetter und im Winter täglich ins Freie.

Zunächst ging ich so vor, dafs ich die Leukozytenmenge nach Trommsdorff ermittelte, in vielen Fällen den Bodensatz direkt mikroskopisch prüfte und ferner den Bodensatz von allen Proben in Bouillon aussäte, die Bouillon durch vier Tage bei 37° C aufbewahrte und die Vegetationen mikroskopisch untersuchte. Ich habe mich davon überzeugt, dafs man auf diesem Wege die sicherste Auskunft darüber erhält, ob in der Milch Kokken vorhanden sind, welche lange Ketten zu bilden vermögen. Ich bin mir bewufst, dafs ein positiver Befund in dieser Beziehung keineswegs beweist, dafs es sich um pathogene Streptokokken handelt oder gar, dafs diese Streptokokken aus dem Euter stammen und die Tiere mit Mastitis behaftet seien; es mufste sich aber zeigen, ob die Stallhygiene die Verbreitung

1) Sommerfeld, Milchkunde, S. 515 ff.

solcher lange Ketten bildender Streptokokken, zu denen die Mastitiserreger gehören, einzuschränken vermag. Bei der Unsicherheit, in der wir uns bezüglich der Verwandtschaft und Mutabilität der verschiedenen Streptokokkenrassen befinden, kann uns dieses nicht gleichgültig sein.

Bei der Entnahme der Milchproben für diese Versuche wurde nur die Vorsicht gebraucht, dafs nach Abreiben des Euters mit einem trockenen Tuche, die Milch in sterilisierte und flambierte Aufnahmegefäfse gemolken wurde.

Tabelle 21.
27. Mai 1909. Gut B. Stall I.

Nr. der Kuh	Zitze			
	1	2	3	4
11	in 10 ccm sind enthalten Leukozyten			
	0,008	0,006	0,003	0,002
	In der 96stündigen Bouillon beobachtet: Diplokokken — viergliedrige Ketten.			
36	0,002	0,007	0,003	0,004
	Präparate = genau wie bei Nr. 11.			
91	0,002	0,003	0,003	0,004
	Präparate = Diplokokken, vereinzelte Staphylokokken			
1	Mischmilch aus allen vier Zitzen			
	aus allen vier Zitzen = 0,004; Präparate aus Bouillonkultur: Diplokokken und viergliedrige Ketten			
4	Mischmilch aus vier Zitzen = 0,004 Leukozyten Präparat = Diplokokken und Kurzstäbchen.			
14	= 0,005 Leukozyten, Diplokokken und viergliedrige Ketten.			
21	= 0,004 » » » » »			
32	= 0,003 » » » » »			
47	= 0,004 Diplokokken und Tetraden.			
72	Leukozyten = unmefsbar gering, Diplokokken, Kurz- und Langstäbchen			
77	= 0,005 Diplokokken und viergliedrige Ketten.			
96	Leukozyten = 0,01 ! ! Kürzere und acht bis zehngliedrige Streptokokkenketten			
2	Zitze 1 und 3 = 0,002, » 2 » 4 = 0,004 } = Diplokokken und Langstäbchen.			

In analoger Weise wurden am 8. Juni 1909 die Tiere des zweiten Stalles von Gut B geprüft. Bei dieser Gelegenheit wurde

die Prüfung der Tiere 1 und 47 aus Stall I wiederholt; die Ergebnisse folgen auf Tabelle 22.

Tabelle 22.

8. Juni 1909. Entnahme von Milchproben zwecks Feststellung des Leukozyten- resp. Streptokokkengehaltes aus dem Musterstall B. (Stall 2).

Nr. der Kuh	Leukozytenmenge aus 10 ccm	Leukozyteneinsaat in Bouillon	
		48 Std. bei 37	Beobachtung nach 3—4 Tagen
1	0,004	nicht untersucht	nach 96 Std. = zahlreiche kurze, aber auch sehr lange Streptokokkenketten
7	0,018 !	im Zentrifugat aufser Leukozyten kurze Streptokokkenketten, in Bouillon kurze Streptokokkenkett.	nach 72 Std. lange Streptokokkenketten in geringer Anzahl
22	0,003 + Spuren von Blut	nicht untersucht	ziemlich zahlreiche 4—6 gliedrige Ketten sehr kleiner, feiner, aber auch solche plumper Art, vereinzelte 10—12 gliedrig.
33	0,002	nicht untersucht	
46	0,01 ! + Spuren von Blut	Diplokokken, keine Streptokokken	nach 96 Std. ziemlich zahlreiche kurze und lange Streptokokkenketten
47	0,005	Diplokokken, keine Streptokokken	vereinzelte kurze Streptokokkenketten
59	0,004	nicht untersucht	nach 72 Std. zahlreiche lange Ketten
62	0,005	nicht untersucht	nach 72 Std. vereinzelte Streptokokkenketten
65	unmefsbare Spur	θ	θ
68	0,002	nicht untersucht	nach 72 Std. ziemlich zahlreiche Ketten
81	0,007	Diplokokken, keine Streptokokken	nach 96 Std. 5—6 gliedrige Streptokokkenketten
92	0,001	nicht untersucht	θ
93	0,002	nicht untersucht	nach 72 Std. ziemlich zahlreiche 4—6, aber auch einzelne 10 gliedrige Ketten.

Die Proben 22, 33, 68 und 93 waren nach 21 Tagen bei Zimmertemperatur noch flüssig.

Die Durchsicht dieser beiden Tabellen ergibt, dafs im Stall I nur ein einziges Tier (96) und im Stalle II nur zwei Tiere (7 u. 46) einen Leukozytengehalt der Milch aufwiesen, den Trommsdorff als mastitisverdächtig bezeichnet.

Vielgliedrige lange Ketten konnten nur aus einer einzigen Milch aus Stall I, und zwar von Tier 96 gezüchtet werden. Von den elf Milchen aus Stall II gaben acht Bouillonkulturen, welche nach 72- bezw. 96stündiger Bebrütung verdächtige Streptokokken aufwiesen, lange Ketten nur in geringer Zahl, so dafs man annehmen darf, dafs die gesamte Aussaat nur einen oder einige wenige Mutterkeime ihrer Art enthalten habe. Dafür spricht noch weiter, dafs keine einzige dieser untersuchten Bouillonkulturen schon nach 48 Stunden lange Ketten aufwies. Einigermafsen verdächtig könnte höchstens der Streptokokkenbefund bei den Milchen 46, 59, 68, 81 und 93, sowie bei der Milch 96 aus Stall I erscheinen. Aber nur bei Milch 96, 46 und allenfalls 81 war der Leukozytenbefund geeignet, diesen Verdacht zu stützen. Bei den Milchen 59, 68 und 93 war der Leukozytengehalt tadellos, wogegen Milch 7 mit dem höchsten Bodensatz nur spärlich Streptokokkenketten lieferte. — Im ganzen war somit der Befund auf Gut B, dessen sämtliche Tiere zur Zeit der Untersuchung auch nach dem tierärztlichen Urteil gesund waren, sehr befriedigend.

Es erschien mir nun sehr wichtig, nach Ablauf einer längeren Frist die Tiere neuerdings zu untersuchen, um zu sehen, ob sich jene, welche wenige Leukozyten und keine oder wenige langkettige Streptokokken in der Milch gehabt hatten, weiterhin anders verhalten haben, als jene, welche eine an Leukozyten bezw. Streptokokken reichere Milch geliefert hatten. Die Nachprüfung konnte leider nicht bei allen Tieren vorgenommen werden, da ein Teil inzwischen verkauft worden war, ein anderer trocken stand.

Das Ergebnis der erneuten Prüfung am 26. Januar d. J. ist in der nachstehenden Tabelle 23 enthalten.

Tabelle 23.
26. Januar 1910.

Nr. der Kuh	Leukozytenmenge in 10 ccm	Ausstrichpräparat aus dem Zentrifugat	Präparat aus Zentrifugateinsaat in Bouillon
2	0,001	nur vereinzelte Kugelformen und Leukozyten	einzeln liegende Kugelformen
4	0,001	nur Leukozyten	vereinzelte Kugelformen
6 alt-melkend	0,001	nichts erwähnenswertes	zahlreiche kürzere u. einige lange Streptokokkenketten, 5 ccm Milch in Bouillon nach 8 Tagen bei 37° vereinzelt 2—3—4gliedrige Ketten
11	0,005	Leukozyten	viele 2—4gliedrig zusammenliegend
22	Spur	θ	θ
32	0,002	Leukozyten	θ
33[1] (hatte Mastitis)	0,005	viele Leukozyten, Diplokokken und 3—4 Kugeln zusammen	Diplokokken u. 3—4gliedrige Ketten
33[2] (hatte Mastitis)	0,001	wenige Leukozyten	3—5gliedrige Ketten
33[3] (hatte Mastitis)	0,003	viele Leukozyten, Diplokokken	2—3gliedrige Ketten
33[4] (hatte Mastitis)	0,006	viele Leukozyten	3—6gliedrige Ketten
36	0,002	wenige Leukozyten, vereinzelte Kugelformen	θ
47	0,002	wie bei 36	sehr zahlreiche 5—7 u. lange 12gliedrige Streptokokkenketten
59	0,001	vereinzelte Leukozyten	kürzere 3—5 u. lange 10 bis 12gliedrige Streptoketten
62	Spur	θ	θ
65	0,001	vereinzelte Leukozyten, Diplokokken	θ
68	0,002	wie bei 65	2—3—4 gliedrige Ketten
81	0,005	Leukozyten, Kugelform, einzelne, 3—4 zusammen	3—4 Kugeln zusammen
91	0,002	wenige Leukozyten	θ
92	0,001	θ	θ
96	0,006	zahlreiche Leukozyten	3—4gliedrige Ketten

Dieses Resultat mufs als aufserordentlich erfreulich angesehen werden. Bei keinem einzigen Tiere war der Leukozytengehalt geeignet, Verdacht auf Erkrankung zu erwecken und bei keinem einzigen Tiere konnten im Ausstrichpräparate aus dem frischen Bodensatze im Trommsdorffschen Gläschen langkettige Streptokokken nachgewiesen werden; ein Befund, auf den Ernst (a. a. O.) anscheinend mit vollem Recht einen so hohen diagnostischen Wert legt.

Besonders hervorzuheben ist, dafs auch die bei der ersten Untersuchung einigermafsen verdächtigen Tiere 22, 59, 81 und 96 diesmal ganz unverdächtige Milch lieferten. Sehr bemerkenswert ist ferner der Befund bei Kuh 33. Auf Wunsch des Besitzers wurde diesmal die Milch aus jeder Zitze gesondert untersucht, da das Tier, welches bei der ersten Untersuchung unverdächtige Milch geliefert hatte, inzwischen angeblich an Mastitis erkrankt war und durch längere Zeit gelbliche Milch gab. Auch diesmal waren die Befunde nicht zu beanstanden. Wenn das Tier wirklich inzwischen Mastitis gehabt hatte, so mufste sie wieder geheilt sein; es verdient dann volle Beachtung, dafs dieses Tier durch mehrere Monate mittels Einspritzung von Borsäurelösung behandelt wurde.

Nun fehlten noch Erhebungen über den Gesundheitszustand der am 8. Juni 1909 auf dem Mustergute B untersuchten Tiere 1, 7, 46, 62 und 93, deren Befunde damals etwas bedenkliche Resultate zeitigten. Mit Ausnahme von Nr. 93, welche öfteren Verkalbens halber verkauft worden war, konnten von den übrigen vier Tieren am 2. Mai 1910 Proben entnommen werden.

Aus der folgenden Tabelle 23a ergibt sich beim Vergleichen der früheren mit den neuesten Untersuchungen, dafs bei diesen vier Tieren die Leukozytenmenge sich erniedrigt hat und bei Nr. 7 sogar um mehr als das vierfache verringerte, ebenso ist jetzt nur bei Nr. 1 im direkten Ausstriche der Nachweis von Streptokokken und bei 46 von vereinzelten Streptobazillen möglich gewesen, während in den Bouillonkulturen von beiden zwar auch wieder Streptokokkenketten wuchsen, aber im Gegensatze zum Befund vom 8. Juni 1909 sich keine langen

Ketten mehr, sondern höchstens zwölfgliedrige nachweisen liefsen. Bei Nr. 7 und 62 sind dagegen keine Streptokokken in der Bouillonkultur mehr auffindbar, die am 8. Juni 1909 in beiden noch zu Tage treten.

Tabelle 23a.

Nr. der Kuh	Befund am 8. Juni 1909			Befund am 2. Mai 1910		
	Leukozyten in 10 ccm	Leukozytenausstrich	Leukozyteneinsaat in Bouillon bei 37° C	Leukozyten in 10 ccm	Leukozytenausstrich	Leukozyteneinsaat in Bouillon bei 37° C
1	0,004	nicht untersucht	zahlreiche kurze, aber auch sehr lange Ketten	0,003	vereinzelte kürzere, aber auch längere Streptoketten	zahlreiche 3—4gliedrige, wenige 6 bis 12 gliedrige, aber keine langen Ketten
7	0,018!	viele Leukozyten u. kurze Streptokokkenketten	nach 72 Std. lange Ketten in geringer Anzahl	0,004	vereinzelte Leukozyten, Diplokokken	Diplokokken und Langstäbchen
46	0,01! + Spuren von Blut	Diplokokken	nach 96 Std. zahlreiche kurze und lange Ketten	0,008 Kuh 46 hatte 4 Tage vorher gekalbt	keine Leukozyten, nur Colostralkörper und vereinzelte Streptobazillen	9—12gliedrige Streptokokkenketten und vereinzelte Streptobazillen
62	0,005	nicht untersucht	nach 72 Std. vereinzelte Streptokokken	0,003	Leukozyten u. vereinzelte Kugelformen	Diplokokken

Es ist also auch bei diesen vier Tieren eine wesentliche Besserung des Euterbefundes zu konstatieren und wir gehen gewifs nicht fehl, wenn wir diesen Erfolg der auf dem Mustergut B gepflogenen Reinlichkeit und ausgezeichneten Pflege der Tiere zuschreiben. Ein weiterer Beweis hierfür kann durch die am 2. Mai 1910 angelegten Plattenkulturen erbracht werden; es wurden je 0,1 ccm Milch ausgesät, und die höchste Zahl der nach 48 Stunden entwickelten Kolonien betrug 30 Kolonien in

1 ccm. Wie immer, so war auch bei diesen Entnahmen, wo es sich nur um Feststellung des Leukozyten- und Streptokokkengehaltes handelte, das Euter nur mit einem trockenen Tuche abgerieben und die ersten Milchpartien beseitigt worden, die Milch sodann aber in sterilisierten Flaschen aufgefangen und ohne Eispackung in das Laboratorium verbracht und erst nach etwa 3 Stunden zum Plattengießen verwendet worden. — Dieses Beispiel dürfte ein erneuter Beweis für den günstigen Einfluß angewendeter Stallhygiene sein.

Ich besitze nun noch Erfahrungen von einem zweiten Gute F. Auch hier sind die Ställe hoch, hell und luftig, auch hier erscheinen die Tiere sauber und wohlgepflegt. Es fehlen aber die modernen Vorrichtungen für die Defäkation, und das Melken scheint nicht mit jener weitgehenden Vorsicht wie auf Gut B vorgenommen zu werden.

Auch diesmal wurde wieder der Leukozytengehalt und der Erfolg der Aussaat des Zentrifugenbodensatzes in Bouillon ermittelt, außerdem aber von vornherein der Bodensatz auch direkt mikroskopisch untersucht. Die beiden folgenden Tabellen enthalten die Ergebnisse der erstmaligen Untersuchungen.

Tabelle 24.
23. Juni 1909. Gut F., Stall I.

Nr. der Kuh	Leukozytenmenge aus 10 ccm	Ausstrichpräparat aus dem Zentrifugat	Bouillonkultur vom Zentrifugat
1	0,01 !	Polynukleäre Leukozyten in großer Menge, ganz vereinzelte Streptokokken	Nicht s. zahlr. 6—8 gliedr. Streptokokkenketten.
2	0,025 !	Pol. Leukozyten, lange Streptokokken nur vereinzelt, Diplokokken	Zahllose kürzere u. längere Streptokokkenketten.
3	unmeßbare Spur	Nicht untersucht	Nicht untersucht
4	0,01 !	Sehr viele pol. Leukozyten, keine Streptokokken, Diplokokken vereinzelt	Kurze Streptokokkenkett.
5	0,001	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
6	0,003	Pol. Leukozyten, zahlreiche kürzere und längere Streptokokkenketten	„ „

Nr. der Kuh	Leukozytenmenge aus 10 ccm	Ausstrichpräparat aus dem Zentrifugat	Bouillonkultur vom Zentrifugat
7	0,018 !	Ebenso	Nicht untersucht
8	0,004	Pol. Leukozyt., vereinzelte kurze, feine und plumpe Streptokokkenketten	Vereinzelte kurze Ketten.
9	0,025 ! Spuren von Blut	Wie bei 4	» » »
10	0,015 !	Pol. Leukozyt., zahlreiche Streptokokkenketten	Nicht untersucht.
11	0,008	Pol. Leukozyten, keine Streptokokkenketten	Kurze u. längere Streptokokkenketten.
12	0,004	Ebenso	Kurze u. längere Streptokokkenketten
13	0,003	Pol. Leukozyten, lange Streptokokkenketten	Nicht untersucht.
14	0,006	Pol. Leukozyten, vereinzel. kurze Ketten	Sehr zahlr. lange Ketten.
15	0,008	Pol. Leukozyten, zahlreiche lange Ketten	Nicht untersucht.
16	0,003 Spur Blut	Pol. Leukozyten, Diplokokken	Fast in jedem Gesichtsfeld Streptokokkenketten.
17	0,002	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
18	Unmeſsbare Spur	» »	» »
19	0,012 !	Pol. Leukozyt., sehr lange Streptokokkenketten	» »
20	Unmeſsbare Spur	Nicht untersucht	» »
21	0,001	» »	» »
22	0,003	Pol. Leukozyten, kurze und 8 bis 10gliedrige Streptokokkenkett.	» »
23	Unmeſsbare Spur	Nicht untersucht.	» »
24	0,003	Pol. Leukozyten, zahlr. kurze u. lange Streptokokkenketten	» »
25	0,008	Pol. Leukozyten, nur ganz wenige Streptokokkenketten	Sehr viele kürzere u. längere Streptokokkenket., feiner u. plump. Strukt.
26	0,001	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
27	0,002	Pol. Leukozyten, vereinz. kurze Streptokokkenkett. u. Diplok.	Vereinzelte kurze u. lange Streptokokkenketten.
28	0,003 Spur Blut	Pol. Leukozyten, zahllose kurze u. lange Streptokokkenketten	
29	Unmeſsbar	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
30	0,002	Pol. Leukozyten, vereinz. kurze u. lange Streptokokkenketten	Kurze und lange Ketten.

Tabelle 25.

5. Juli 1909. Gut F., Stall II und III.

Nr. der Kuh	Leukozytenmenge in 10 ccm	Ausstrichpräparat aus dem Zentrifugat	Bouillonkultur vom Zentrifugat
Stall II			
2	0,003	Pol. Leukozyten, Diplo- u. Streptokokken	Kürzere u. läng. Streptoketten.
5	0,003	Pol. Leukozyten, kurzgliedrige Streptokokken	Kürzere u. lang. Streptoketten.
6	0,002 Spuren Blut	Leukozyten, stechapfelför. Blutkörperchen und Diplokokken	Stäbchen, Diplokokk., kleinere Streptoketten.
7	0,025 !	Pol. Leukozyten, keine Streptokokken	Kürzere Streptokokkenketten
8	0,001	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
9	0,003	P. Leukozyten, keine Streptokok.	Ganz vereinzelte Streptoketten.
10	0,02 !	P. Leukozyten, Streptokokken	Kurze Streptoketten.
11	0,004	P. Leukozyten, keine Streptokok.	Keine Streptokokken.
12	0,002	» » »	» «
13	0,005	» » »	Sehr zahlr. Streptokokken.
14	0,003	» Diplokokken	Keine Streptokokken.
15	0,002	» »	8—12 gliedrige Streptokok.
16	0,018 !	» keine Streptokok.	Keine Streptokokken.
Stall III			
31	0,002 Blut	» Diplokokken	Kurze »
32	0,002	» »	Kürzere 6—8 gliedr. Streptoketten.
33	0,001	Nicht untersucht	Nicht untersucht.
34	0,002	P. Leukozyten, Diplokok. } keine Streptokokken	Vereinzelte kurze Streptoketten.
35	0,002	» » } keine Streptokokken	Kurze und lange Streptoketten.
36	0,001	} Nicht untersucht	
37	0,001	} Nicht untersucht	
38	0,003	P. Leukozyten, Diplokokken	Keine Streptokokken.
39	0,005 + Blut	« »	6—10 gliedr. Streptokett.
40	0,006	» keine Streptokok.	10—15 gliedr. Streptokett.
41	0,002	Ebenso.	Keine Streptokokken.
42	0,015 !	Mono- und polynukleäre Leukozyten und Stäbchen	Nur Stäbchen.
43	0,002	P. Leukozyten, Diplokokken	Kürz. u. läng. Streptokett.
44	0,013 !	Nur P. Leukozyten, vereinzelte Diplokokken	Sehr zahlr. Streptoketten.
45	0,004	P. Leukozyten, Diplokokken	Sehr zahlr. kurze u. lange Streptoketten.
46	0,0015	Nicht untersucht	Nicht untersucht.

Es ist klar, daſs diese Befunde vom Gute F erheblich verdächtiger waren als die analogen Ersterhebungen auf Gut B. Im Stalle I hatten von 30 Kühen nicht weniger als sieben einen nach Trommsdorff als verdächtig zu bezeichnenden Leukozytengehalt der Milch; im Stall II drei von 13, im Stall III zwei von 16, und bei weiteren insgesamt fünf Tieren kam der Leukozytengehalt der Verdachtsgrenze nahe (über 0,005). Bei vier Tieren (Stall I bei 2 u. 9, Stall II bei 7 u. 10) erreichte bezw. überschritt der Bodensatz sogar die Menge von 0,02 in 10 ccm. — Im direkten Ausstriche des Bodensatzes wurden lange Streptokokkenketten reichlich bei zehn Tieren gefunden:

in Stall I Nr. 6, 7, 10, 13, 15, 19, 22, 24, 28 und Stall II bei Nr. 10;

spärlich bei sieben Tieren:

in Stall I Nr. 1, 2, 25, 27, 30 und Stall II bei 2 u. 5.

Ein Parallelismus zwischen der Gröſse des Bodensatzes nach dem Zentrifugieren und dem Streptokokkengehalte des Bodensatzes bestand allerdings in vielen Fällen nicht. So ergab sich hoher Leukozytenbefund und geringe Streptokokkenmengen bei Stall I in Nr. 1, 2, 4, 9, 11, 25, Stall II in Nr. 7, Stall III in Nr. 42 u. 44, dagegen niederer Leukozytengehalt und relativ hoher Streptokokkenbefund bei Stall I in Nr. 6, 13, 22, 24, 28, Stall II in Nr. 2 u. 5; in einzelnen Fällen aber wurde der Verdacht auf etwa bestehende Mastitis erhöht durch übernormale Leukozytenzahl und Streptokokkenbefund, so in Stall I bei 7, 10, 15 u. 19, Stall II bei 10.

Die verschiedenen Ställe verhielten sich nicht gleich; Stall III erschien unverdächtig, da im Ausstrich des Leukozytenbodensatzes nirgends Streptokokken gefunden wurden, dagegen muſsten die Zustände im Stall I nach allen bisherigen Erfahrungen ernste Bedenken erwecken. — Der Ausfall der Bouillonkulturen zeigt, daſs auch im Stalle III Streptokokken häufig in die Milch übergehen, was wohl auf die unvollkommenere Stallhygiene zurückzuführen sein dürfte.

Nach diesen Befunden muſste man mit Spannung der weiteren Entwicklung bei den Kühen des Gutes F entgegensehen

und jetzt bin ich nach Ablauf von $^3/_4$ Jahren in der Lage, folgende Mitteilungen vorlegen zu können. Auf meine Anfrage, welche von den z. Z. untersuchten Tieren für eine jetzt beabsichtigte Nachprüfung noch vorhanden seien, erhielt ich die Antwort des Besitzers, dafs er im Laufe der letzten Monate alle Tiere mit einer einzigen Ausnahme wegen ständig sich steigernder Agalaktie und damit verbundenem grofsem Milchverluste verkauft habe. Bei den meisten Tieren seien einzelne, wohl auch mehrere Zitzen verödet und infolge dessen sei der ganze Bestand geändert worden. Konnte man auch nach den auf Tabelle 24 u. 25 mitgeteilten Ergebnissen auf ein Weitergreifen gefafst sein, so war doch eine so energische Einwirkung des Infektionserregers kaum zu erwarten. Die einzige von früher noch vorhandene Kuh 44 war bereits auch verkauft, aber durch einen Zufall noch nicht abgeholt. Die hiervon am 14. April 1910 entnommene Probe ergab folgendes Resultat; die eingeklammerten Befunde sind diejenigen vom 5. Juli 1909 Leukozyten = (0,013) 0,022 in 10 ccm:

Leukozytenausstrich (wie nebenstehend) = viele Leukozyten, keine Streptokokken;

Leukozyteneinsaat in Bouillon (nach 72 Std. kurze und lange Ketten) nach 24 Std. massenhaft feine, lange Streptokokkenketten;

Plattenkultur aus Zentrifugat = einzelne verflüssigende Kolonien, dagegen grofse Mengen von festwachsenden kleinen Kolonien, welche in Bouillon nach 48 Std. und auf Schiefagar lange Ketten von Streptokokken ergaben.

Katalase in der Milch in $^1/_2$ Std. = 3,6 ccm; in 24 Std. = 9,5 ccm.

Gegen die Entnahme vom 5. Juli 1909 hatte sich die Leukozytenmenge fast verdoppelt und wenn die Streptokokkenmenge sich in ähnlicher Weise vermehrt hat, so kann uns, von diesem Tiere auf die anderen schliefsend, die Milchverminderung nicht zu sehr überraschen. Jedenfalls wird der Verkauf des ganzen Bestandes eine dringende Notwendigkeit gewesen sein.

Es erübrigt nur noch die Mitteilung, dafs ich mit bereitwilligster Zustimmung des Besitzers den neuen Bestand bereits in gleicher Weise untersucht habe und ist mir die Zusicherung geworden, mich von eintretenden Verkäufen zwecks Probeentnahme zur Nachprüfung rechtzeitig in Kenntnis setzen zu wollen. Hierüber folgt späterer Bericht.

Vielfach benutzte ich bei den vorliegenden Untersuchungen den von Ernst konstruierten und a. a. O. S. 74 u. 75 beschriebenen »Euterentzündungsprüfer« auf seine praktische Verwendbarkeit und erhielt mit demselben so gute Resultate, dafs ich diesen Apparat jedem einsichtigen Landwirt im eigensten Interesse empfehle. Der Apparat wird durch die Firma Stiefenhofer in München geliefert und besteht aus einer Anzahl in einem Stativ stehenden Sedimentierröhren. Dieselben sind etwa 21 cm hoch bei 2 cm Weite, haben oben zum direkten Einmelken einen Trichteransatz und darunter ein mattiertes Band zum Aufschreiben der Nummern, während das untere Ende meifselförmig zugespitzt ist. — Die sehr einfache Anwendung ermöglicht es jedem Stallbesitzer, sich selbst über den Gesundheitszustand seiner Kühe innerhalb 24 Stunden ein eigenes Urteil zu verschaffen. Findet er etwas Auffälliges, über welches er selbst sich nicht aufzuklären vermag, dann befrage er den Tierarzt. So konstatierte ich bei grofsen Leukozytenmengen, z. B. 4 im Tausend, dafs innerhalb einer Stunde ein deutlich sichtbarer Absatz vorhanden war; bei kleineren, noch nicht zu beanstandenden Mengen wie 5—8 in 10,000 Teilen = 0,005—0,008 in 10 ccm, war die Abscheidung innerhalb 24 Stunden eine vollkommen sichtbare und scharfe und dabei genügen zur Füllung der Aufnahmegefäfse etwa 45 ccm. Auf diese Weise kann mit leichter Mühe sowohl die Mischmilch einer Kuh als auch das Gemelk jeder einzelnen Zitze in kurzer Zeit geprüft und in zweifelhaften Fällen die Entscheidung eines Sachverständigen eingeholt werden.

Zum Schlusse dieses Abschnittes möchte ich noch darauf hinweisen, dafs die bei weitem gröfste Anzahl der von mir bei diesen Untersuchungen isolierten Streptokokken keine Säure

bildete. Diese Erscheinung entbehrt möglicherweise nicht eines gewissen Zusammenhanges mit den Beobachtungen von Burri und Allemann[1]), auf welche Interessenten verwiesen seien.

VII. Schlufs.

Wir kommen nun zur Zusammenstellung der Ergebnisse:

1. Von 84 aseptisch entnommenen Milchproben sind 20 vollkommen keimfrei befunden worden; bei einer grofsen Anzahl von Proben ist der ermittelte Keimgehalt ein so geringer (2—5 Keime in 1 ccm) gewesen, dafs es sich hier wohl nur um unvermeidbare Verunreinigungen durch die Umgebung handeln kann. Wenn auch in diesen Fällen die Milch mit gröfster Wahrscheinlichkeit als keimfrei anzusehen ist und die ermittelten Eigenschaften denen der obigen zwanzig Proben meistens entsprechen, so sind solche doch als keimhaltig rubriziert worden.

2. Bezüglich des Enzymgehaltes wurde durch Untersuchung dieser zwanzig Proben ermittelt, dafs Katalase, direkte Oxydase, Peroxydase, Schardinger-Enzym und Diastase originäre Bestandteile keimfreier Milch sind.

3. Reduktase, Hydrogenase und Salolase sind in der Kuhmilch bakteriellen Ursprungs.

4. Mehrfach wurden Mikrokokkenstämme isoliert, welche in sterilisierter und keimfrei befundener Milch bei 37° C gleichzeitig Katalase und Reduktase bilden.

5. Es hat sich bei der Milch von euterkranken Kühen gezeigt, dafs der Gehalt an Katalase, Schardinger Enzym und Reduktase erhöht ist.

6. Das Schardinger Reagens Methylenblauformalin wird auch durch künstlich sterilisierte keimfreie Milch in einer allerdings wesentlich längeren Zeit als durch keimhaltige Milch entfärbt.

7. Der anatomisch festgestellte Zusammenhang der seitlichen Zitzen ist auch durch die Beschaffenheit der Milchbefunde nachgewiesen.

---

1) Burri und Allemann, Zeitschrift für Nahrungs- und Genufsmittel, Heft 8, 1909, S. 449.

8. Erwähnenswert ist die Beeinflussung des Säuregrades bei Vorhandensein großer Leukozytenmengen.

9. Beweise für die Verminderung der Keimzahl bei längerem Stehen der Milch sind mehrfach erbracht worden.

Bezüglich der Mastitisfrage ist hervorzuheben:

1. Die Trommsdorffsche Leukozytenprobe ist für die einzelnen Zitzen als diagnostisches Hülfsmittel zur Erkennung der Streptokokkenmastitis sehr wertvoll.

2. Der »Euterentzündungsprüfer« von Ernst ist jedem Landwirt zur leicht ausführbaren Kontrolle seines Stalles zu empfehlen.

3. Hat sich bei der Leukozytenprobe durch Zentrifugieren ein überhaupt meßbares Sediment gezeigt, dann muß dessen mikroskopische Prüfung auf Streptokokken erfolgen. Die Anlage von Bouillonkulturen aus dem Zentrifugat ist zu empfehlen. Wenn auch der positive Ausfall noch keineswegs das Bestehen einer Mastitis beweist, so liegt doch in dieser Probe, wie es scheint, ein Kriterium, welches zur sorgfältigen Durchführung der Stallhygiene veranlaßt.

4. Durch große Reinlichkeit und entsprechende Pflege ist auf dem Mustergute B die Ausbreitung der Streptokokkenmastitis hintangehalten worden. Dieser Erfolg muß ein kräftiger Ansporn für alle Interessenten sein, um diese Infektionskrankheit zu bekämpfen, bei welcher so große Werte auf dem Spiele stehen.

München, 11. Mai 1910.

Nachruf auf Prof. Jos. Forster.

Am 12. Oktober dieses Jahres überraschte uns die völlig unerwartete Kunde vom Tode Prof. Jos. Forsters. Wenige Monate vorher hatte er sich anscheinend im Vollbesitze seiner Gesundheit auf eine Studienreise begeben, um noch einige Beobachtungen an fremden Instituten zu machen, die er voll freudiger Schaffenslust beim Neubau seines Laboratoriums zu verwerten gedachte.

Das Archiv für Hygiene betrauert tief den schweren Verlust, den es durch den Hingang eines seiner Begründer und eines seiner treuesten Mitarbeiter erfahren hat.

J. Forster war 1844 zu Nonnenhorn in der Nähe von Lindau geboren. Nach seiner hauptsächlich in München verbrachten Studienzeit trat er bei C. Voit als Assistent am physiologischen Institut ein, habilitierte sich 1874 für Hygiene, wurde 1877 zum Professor der Physiologie an der Tierarzneischule zu München und 1878 zum Professor der Hygiene an der neu errichteten Universität der Stadt Amsterdam ernannt, wo er bis 1896 dozierte, um dann schliefslich einem Ruf nach Strafsburg i. E. zu folgen.

Seine wissenschaftliche Tätigkeit brachte ihn naturgemäfs zuerst in Berührung mit der Ernährungsphysiologie, die er durch eine Reihe wichtiger, mühevoller Untersuchungen, vor allem über den Aschestoffwechsel, bereicherte. Schon damals aber äufserte sich bei ihm weniger der Drang zu ausschliefslich

theoretischen als vielmehr zu solchen wissenschaftlichen Problemen, deren Verwertung ins praktische Leben eingreift.

Gleichzeitig mit dieser Tätigkeit im Voitschen Laboratorium wurde in ihm durch die Beziehungen zu Max v. Pettenkofer das Interesse für die Hygiene geweckt. Forster nahm an den Untersuchungen über die Zentralheizung an Schulen, die damals zu den Tagesfragen gehörte, hervorragenden Anteil und verwertete seine physiologischen Kenntnisse zum Studium der Ernährung vom Standpunkte der öffentlichen Nahrungsversorgung. Von seiner Hand rührt aus dieser Zeit auch ein trefflicher Abschnitt des Handbuchs der Hygiene von Pettenkofer und Ziemssen über Massenernährung her.

Als bald nach seiner Übersiedelung nach Amsterdam die Bakteriologie in die Hygiene eingeführt wurde, schloſs er sich der neuen Richtung an und erweiterte demgemäſs sein Laboratorium. Neben Untersuchungen über die Beziehungen der Nahrungsmittel zu den Bakterien vom Standpunkte der Konservierungsfrage bearbeitete er namentlich auch verschiedene Aufgaben der Desinfektion.

Seit seiner Berufung nach Straſsburg wurde er bald in das Problem der Typhusbekämpfung hineingezogen, und ihm und seinen Schülern verdanken wir eine Fülle von wertvollen Untersuchungen über die Verbreitung des Paratyphus, Abdominaltyphus und über die Beziehung der Typhusbazillen zu den Gallenwegen.

Wer Forsters reiche Arbeitskraft nur nach den literarisch festgelegten wissenschaftlichen Leistungen beurteilen wollte, würde diese sehr unterschätzen. In Amsterdam wie in Straſsburg hat er einen groſsen Teil seiner Zeit der praktisch-hygienischen Mitarbeit bei verschiedenen Verwaltungsbehörden, deren stille treibende Kraft er vielfach gewesen ist, gewidmet.

In allem, was Forster schuf, war er ein kritischer, genauer und sorgfältiger Forscher, der nichts, was er nicht selbst zu prüfen Gelegenheit hatte, der Öffentlichkeit übergab. Durch diese Gewissenhaftigkeit und Exaktheit der Methodik war er ein vortrefflicher Lehrer, der seinen Schülern sein Bestes mit auf den Weg gab und sie Rat und Hilfe nie vermissen lieſs.

Wer ihm persönlich näher trat, konnte sich dem Reiz seines liebenswürdigen, freundlichen Wesens, seiner einfachen, geraden, allen Äufserlichkeiten abholden Natur und seiner charakterfesten Männlichkeit nicht entziehen.

Sein Andenken wird von allen hoch geachtet werden, denen er Lehrer oder Freund oder beides gewesen ist, sein Name wird in der Wissenschaft unvergessen sein.

Rubner.

Über Art und Herkunft der flüchtigen Basen von Kulturen des Bacterium Prodigiosum.

Von

D. Ackermann und **H. Schütze.**

(Aus dem Physiologischen und dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Der eigentümliche Geruch nach Häringslake, welchen Prodigiosumkulturen ausströmen, ist von jeher aufgefallen, und da dieser Geruch für das Trimethylamin und Methylamin charakteristisch ist, besteht allgemein die Annahme, diese Basen würden durch die Lebenstätigkeit der genannten Bakterien gebildet; wirklich rein dargestellt und analysiert ist aber bisher nur das Methylamin, welches Scheurlen[1]) aus 300 Kartoffelkulturen als Chloroplatinat isolierte und durch eine Platinbestimmung identifizierte, Trimethylamin konnte derselbe Autor nicht finden, und auch sonst vermissen wir in der Literatur einen exakten Beweis für das Auftreten dieser Base in Prodigiosumkulturen.

Da das in Kutschers Laboratorium ausgearbeitete Verfahren von Takeda[2]) es neuerdings ermöglicht, vorgebildet vorkommendes Trimethylamin bequem nachzuweisen, ohne daſs dabei die Gefahr besteht, diese Base im Laufe der Darstellung aus einem etwa vorhandenen höhermolekularen Körper abzuspalten, so haben wir die Frage nach der Art der flüchtigen

1) Archiv für Hygiene, Bd. 26 S. 27.

2) Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. 129, S. 82.

Basen von Prodigiosumkulturen erneut in Angriff genommen, und auch hinsichtlich ihrer Herkunft einen gewissen Aufschlufs bekommen.

Versuch 1.

15 Kulturschalen von 20 cm Durchmesser, wie wir sie auch für alle weiteren Versuche verwandten, werden mit Kartoffelscheiben beschickt und nach dem Sterilisieren mit Bact. prodigiosum im Strich geimpft. Nach fünftätigem Stehen im Brutraum, welcher für alle Versuche auf 25° gebracht wurde, unterwarfen wir das Material dem Verfahren von Takeda. Wir gaben die ganzen Kartoffelscheiben mit den schön rotgefärbten Kulturbelägen in einen grofsen, dickwandigen Kolben, bedeckten sie dann mit Wasser, dem 30 g Magnesiumkarbonat zugegeben war, und destillierten unter vermindertem Druck bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur des Wasserbades in vorgelegte verdünnte Salzsäure, wobei wir uns des vorgeschriebenen Apparates bedienten. Um das hierbei auftretende Schäumen des Kolbeninhaltes hintanzuhalten, genügt nicht die Zugabe von Alkohol, sondern man mufs Toluol hinzufügen, und zwar soviel, dafs die ganze Flüssigkeitsoberfläche damit bedeckt ist. Die Destillation dauerte bei diesem und allen folgenden Versuchen 2 Stunden. Nach dieser Zeit wurde die vorgelegte salzsaure Flüssigkeit auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Es schieden sich nicht unerhebliche Mengen von Ammoniumchlorid ab, die auch bei allen späteren Versuchen beobachtet wurden und sich durch häufiges Aufnehmen mit absolutem Alkohol fast völlig beseitigen liefsen. Die schliefslich resultierende Lösung befreiten wir vom Alkohol durch Abdampfen, fügten dem verbleibenden spärlichen Syrup etwas Wasser und Salzsäure zu und fällten nun mit 30%iger Goldchloridlösung. Der sofort entstehende schwerlösliche Niederschlag wurde abgesaugt und getrocknet. Er wog 0,34 g und bestand aus Trimethylaminchloraurat:

0,1094 g Substanz gaben 0,0545 g Au

Berechnet für $(CH_3)_3 N \cdot H Au Cl_4$: Au 49,4%. Gefunden 49,8%.

Versuch 2.

14 Schalen mit Kartoffeln wurden nach dem Sterilisieren mit Prodigiosum geimpft und diesmal länger, nämlich 14 Tage, im Brutraum stehen gelassen. Nach dieser Zeit liefsen sich ungefähr ebensoviel wie im vorigen Versuch, nämlich 0,30 g Trimethylaminchloraurat aus dem Destillate gewinnen. Der Goldwert des Präparates änderte sich durch Umkristallisieren nicht:

0,1392 g Substanz gaben 0,0684 g Au

0,1024 g Substanz gaben 0,0503 g Au

Berechnet 49,4% Au. Gefunden 49,2% und 49,1% Au.

Versuch 3.

12 Schalen mit Kartoffelscheiben blieben nach Impfung mit Prodigiosum 14 Tage im Brutraum; erhalten wurden 0,35 g Trimethylaminchloraurat:

0,1185 g Substanz gaben 0,0582 g Au

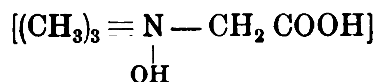
Berechnet 49,4% Au. Gefunden 49,1% Au.

Nachdem durch diese Versuche erwiesen war, dafs das Bacterium Prodigiosum, auf Kartoffeln gezüchtet, regelmäfsig[1]) Trimethylamin bildet, wechselten wir jetzt den Nährboden und züchteten auf einem folgendermafsen zusammengesetzten Nährsubtrat: Wasser 1000 g, Agar 20 g, Natriumchlorid 5 g, Pepton-Witte 10 g, Monokaliumphosphat 2 g, Ammonium lacticum 6 g, Sodalösung bis zur schwachen Alkaleszenz. Der Zusatz von Fleischextrakt wurde absichtlich vermieden.

Versuch 4.

6 Kulturschalen wurden mit diesem Agarnährboden beschickt, sterilisiert und mit Prodigiosum im Strich geimpft. Nach fünftägigem Stehen im Brutraum war ein üppiges Wachstum erfolgt, und wir gaben die gesamte Nährbodenmasse in den Destillationskolben. Aus dem Destillat liefs sich nach der oben geschilderten Vorbehandlung mit Gold keine Spur eines Niederschlages gewinnen, so dafs sich also Trimethylamin nicht gebildet hatte.

Aus diesem Versuch zogen wir den Schlufs, dafs in der Kartoffel eine Muttersubstanz enthalten sein müsse, welche in ihrem Molekül das Trimethylamin enthalte, und aus welcher dies durch die Lebenstätigkeit des Bact. Prodigiosum abgespalten werde. Als solche kam unter andern das Betain



$$[(CH_3)_3 = \underset{\displaystyle OH}{\overset{|}{N}} - CH_2\,COOH]$$

in Betracht, das aufser in zahlreichen pflanzlichen Organen auch in einem Reservestoffbehälter, nämlich der Rübe (Beta vulgaris), von Scheibler[2]), dem Entdecker der Base, gefunden wurde.

Versuch 5.

6 Schalen wurden mit Agarnährboden, dem vorher 2 g Betainchlorid zugesetzt war, beschickt und nach dem Sterilisieren und Impfen mit Prodigiosum 5 Tage im Brutraum gelassen. Es liefs sich keine Spur Trimethylamin im Destillate nachweisen.

Versuch 6.

14 Kulturschalen wurden mit Kartoffelscheiben beschickt und vor dem Sterilisieren auf jede etwas einer Betainlösung aufgepinselt, die hergestellt

1) Einmal haben wir das Trimethylamin vermifst in Kartoffelkulturen des Prodigiosum, die bei Zimmertemperatur gehalten waren. Bei einem zweiten, genau gleichen Versuch fand sich aber wieder die Base in der üblichen Menge. Den Grund für das Fehlen des Trimethylamins in diesem einen Falle vermögen wir nicht anzugeben.

2) Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 2. 292, Bd. 3. 155.

war aus 3 g Betainchlorid. Nach der Impfung mit Prodigiosum blieben die Kulturen 6 Tage im Brutraum, worauf sich aus ihnen 0,24 g Trimethylaminchloraurat gewinnen liefs.

0,1128 g Substanz gaben 0,0562 g Au
Berechnet 49,4 % Au. Gefunden 49,8 % Au.

Die Menge des Salzes beträgt in diesem letzten Versuche nicht mehr als in den Versuchen 1, 2 und 3, bei denen ja kein Betain zugesetzt war, so dafs also dieses an der Bildung des Trimethylamins nicht beteiligt ist, wie auch schon Versuch 5 ergab.

Neben dem Betain kam als Muttersubstanz des Trimethylamins das Cholin $[(CH_3)_3{\equiv}\underset{OH}{\underset{|}{N}}{-}CH_2OH]$ in Betracht, und diese Base ist auch von D. Schulze[1]) und seinen Schülern in der Kartoffel aufgefunden worden.

Versuch 7.

6 Schalen werden mit Agarnährboden gefüllt, dem vorher 2 g Cholinchlorid zugesetzt war. Das Wachstum des Prodigiosum dauerte 5 Tage. Nach dieser Zeit liefsen sich nicht weniger als 1,1 g Trimethylaminchloraurat aus dem Destillate gewinnen:

0,1280 g Substanz gaben 0,0630 g Au
Berechnet 49,4 % Au. Gefunden 49,2 % Au.

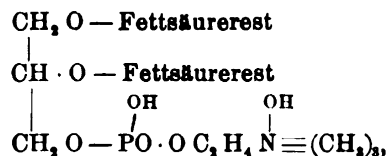
Während also ohne Zusatz von Cholin auf Agarnährboden gar kein Trimethylamin gebildet wird, entstehen bei Gegenwart von Cholin ganz erhebliche Mengen Trimethylamin.

Versuch 8.

7 Schalen werden mit Kartoffelscheiben beschickt, auf welche insgesamt eine Lösung von 3 g Cholinchlorid in Wasser aufgepinselt wird. Das Wachstum des Prodigiosum dauerte 7 Tage. Die Menge des Trimethylaminchloraurates betrug 4,19 g, hatte sich also durch den Zusatz von Cholin gegenüber den Versuchen 1 bis 3 mehr als verzwanzigfacht:

0,1340 g Substanz gaben 0,0661 g Au
Berechnet 49,4 % Au. Gefunden 49,3 % Au.

Aufser dem Cholin mufste auch noch das Lezithin



1) Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, Bd. 46 S. 55 (1896).

welches ja das Cholin in seinem Molekül enthält, in den Kreis der Versuche gezogen werden, um so mehr, da man auch das Lezithin in der Kartoffel gefunden hat[1]).

Versuch 9.

8 Schalen werden mit Kartoffelscheiben belegt, auf welche vorher Lezithin[2]) in möglichst dünner Schicht mit Hilfe eines Metallspatels aufgetragen war. Das Wachstum des Prodigiosum erstreckte sich über 6 Tage. Dann liefs sich aus dem Destillat 0,83 g Trimethylaminchloraurat gewinnen; also auch hier war eine deutliche Vermehrung der Base zu verzeichnen:

0,1037 g Substanz gaben 0,0511 g Au
Berechnet 49,4 % Au. Gefunden 49,3 % Au.

Wir haben nun auch noch geprüft, ob eine andere Stäbchenart, und zwar der Bazillus Vulgatus sich ähnlich wie jener verhält; diese Feststellung war um so notwendiger, als nicht selten die Kartoffelkulturen des Prodigiosum mit Vulgatus mehr oder weniger infiziert waren und wir ohne das Verhalten des letzteren zu kennen, keinen bündigen Schlufs auf das Prodigiosum machen konnten.

Versuch 10.

8 Kulturschalen werden mit Kartoffelscheiben beschickt und nach dem Sterilisieren mit B. Vulgatus im Strich geimpft. Nach 14 tägigem Stehen im Brutraum wird der Inhalt der Schalen nach Takeda destilliert, doch fand sich in dem Destillat keine Spur Trimethylamin.

Dieser Versuch zeigt nicht nur, dafs der Bac. Vulgatus bei seinem Wachstum auf Kartoffeln kein Trimethylamin liefert, sondern es ergibt sich daraus auch das vollständige Fehlen von freiem Trimethylamin in der Kartoffel selbst. Die Kenntnis dieser Tatsache ist natürlich notwendig, wenn man das bei den obigen Wachstumsversuchen des Prodigiosus auf Kartoffeln gebildete Trimethylamin auf die Lebenstätigkeit dieser Bakterien beziehen will.

1) Stellwag, Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, Bd. 37 S. 149 (1890).

2) Der Chemischen Fabrik J. D. Riedel (A. G.) möchten wir an dieser Stelle danken, weil sie uns das Lezithin, aus dem auch ein Teil des oben verwandten Cholins von uns hergestellt wurde, kostenlos zur Verfügung stellte.

Versuch 11.

3 Kulturschalen [1]) werden mit Kartoffelscheiben belegt und auf diese Lezithin aufgetragen, worauf sterilisiert wird. Als Impfmaterial diente wiederum B. Vulgatus und das Wachstum dauerte 15 Tage.

Auch bei diesem Versuch wurde Trimethylamin vollständig vermifst, was nach zweierlei Richtung bemerkenswert ist. Erstens fehlt, wie man sieht, dem Bac. Vulgatus die Fähigkeit, aus Lezithin Trimethylamin frei zu machen, anderseits aber ergibt sich, dafs Lezithin die dreimalige Sterilisierung im Dampftopfe verträgt, ohne Trimethylamin abzuspalten. Wäre das Lezithin nicht so widerstandsfähig und verlöre es einen Teil dieser Base aus seinem Molekül bei der Einwirkung einer Temperatur von 100°, so dürfte das in Versuch 9 beim Wachsen von Prodigiosum auf Lezithinnährboden gebildete Trimethylamin nicht auf die Wirkung des Prodigiosum zurückgeführt werden.

Versuch 12.

Die Kartoffelscheiben von 2 Kulturschalen werden mit einer Lösung von 1 g Cholinchlorid in Wasser bepinselt und auf diesem Nährboden 7 Tage Vulgatus kultiviert. Im Destillat fehlt Trimethylamin.

Versuch 13.

In einer Agarnährlösung von der oben geschilderten Zusammensetzung werden 2 g Cholinchlorid gelöst, das Ganze wird dann auf 4 Kulturschalen verteilt, auf denen B. Vulgatus 4 Tage wächst. Auch hier fehlte jegliches Trimethylamin; somit kann also der B. Vulgatus auch aus Cholin das Trimethylamin nicht frei machen, und ferner übersteht das Cholin das dreimalige Erhitzen auf 100° bei der Sterilisation ohne sich zu zersetzen.

Wir haben nun auch hinsichtlich des Methylamins Nachforschungen angestellt und sind dabei so vorgegangen, dafs wir jedesmal das Filtrat der Trimethylaminchlorauratfällung mit Schwefelwasserstoff behandelten. Von ausgeschiedenem Schwefelgold wurde abfiltriert und das Filtrat zum Syrup eingeengt. Dieser wurde meist noch einige Male mit absolutem Alkohol aufgenommen, um die letzten Reste des Ammoniumchlorides zu

1) Ursprünglich waren auch hier 6 Schalen angesetzt, doch mufsten drei derselben beiseite gelassen werden, da sie Verunreinigung durch Schimmel zeigten.

beseitigen, worauf die Flüssigkeit vom Alkohol befreit und mit wässriger Platinchloridlösung gefällt wurde. Es ergab sich hierbei entweder keine oder eine spärliche Fällung, die aber doch gesammelt wurde, und zwar vereinigten wir die drei Platinate, welche sich auf diese Weise gewinnen liefsen, aus 3 Versuchen von Prodigiosum + Kartoffel ohne Zusatz, wodurch 0,15 g Methylaminplatinat erhalten wurde.

0,1110 g Substanz gaben 0,0460 g Pt.

Berechnet für $(CH_3\,NH_2)_2 . H_2\,PtCl_6$	Gefunden:
Pt: 41,3%	41,4%

Ferner wurden auch 3 Platinate zusammengemischt, die sich aus 3 Versuchen von Prodigiosum + Kartoffel + Lezithin bzw. Cholin bzw. Betain (Versuch 9, 8 u. 6) hatten gewinnen lassen; auch hier betrug die Menge 0,15 g Methylaminplatinat.

0,1142 g Substanz gaben 0,0473 g Pt.
Berechnet 41,3% Pt. Gefunden: 41,4% Pt.

Somit war also in sechs Versuchen Methylamin nachgewiesen worden, doch liefs sich kein Anwachsen der Mengen dieser Base nachweisen, wenn die Kartoffelkulturen mit Substanzen, wie Cholin und Lezithin, versehen waren, die die Ausbeute der andern Base, nämlich des Trimethylamins, ganz erheblich zu steigern vermögen.

Auch die Prodigiosumkulturen von Versuch 4, 5 und 7, welche nicht auf Kartoffeln, sondern auf Agar angestellt waren, untersuchten wir auf Methylamin, aber ohne etwas darin zu finden.

Versuch 14.

Schliefslich werden dann noch ca. 3 kg geschälte Kartoffeln in 4 Portionen 2 Stunden nach Takeda destilliert, es fand sich jedoch im Destillat nur Ammoniak und weder Trimethylamin noch auch Methylamin, so dafs man auch das Auftreten der letzteren Base nurder Wirkung von Prodigiosum zuschreiben kann.

Welches nun die Muttersubstanz des Methylamins ist, darüber können wir keine bestimmteren Angaben machen, doch ist der Atomcomplex des Methylamins gerade in sehr vielen

Pflanzenalkaloiden enthalten und ein solches wird man auch in der Kartoffel voraussetzen dürfen, da die bakterielle Bildung des Methylamins aus Cholin bzw. Lezithin nach unseren Versuchen ausgeschlossen erscheint.

Fassen wir noch einmal unsere Resultate zusammen, so ergibt sich

1. Das bisher immer nur auf Grund des Geruches in Prodigiosumkulturen vermutete Auftreten des Trimethylamins ist jetzt durch Analysen des rein dargestellten Körpers bewiesen.

2. Das Trimethylamin wird vom Bact. Prodigiosum auf Kartoffeln gebildet, nicht aber auf solchen festen Nährböden, die aufser den üblichen Nährsalzen nur Eiweifs enthalten[1]).

3. Als die Muttersubstanz des Trimethylamins betrachten wir das Lezithin und Cholin; jedenfalls konnten wir die Ausbeute an Trimethylamin ganz erheblich steigern, wenn wir eine dieser Substanzen den Kartoffeln zugesetzt hatten, und weiter konnten wir die Base auf reinem Eiweifsnährboden überhaupt erst nach solchen Zusätzen erzeugen. — Aus dem Betain aber wurde die Base durch Bact. Prodigiosum nicht abgespalten[2]).

4. Bac. Vulgatus bildet im Gegensatz zum Prodigiosum kein Trimethylamin auf Kartoffeln, auch nicht nach Zusatz von Lezithin und Cholin.

5. Das von Scheurlen bereits isolierte Methylamin konnten auch wir nachweisen, doch tritt seine Menge bedeutend hinter der des Trimethylamins zurück. Seine Muttersubstanz ist noch unbekannt; aus Nährböden von reinem Eiweifs ist es gleichfalls nicht zu erhalten.

---

1) Wenn man gelegentlich bei Prodigiosumkulturen die auf Agar angestellt sind, doch den Geruch nach Trimethylamin spürt, so kann der Grund dafür nur darin gesucht werden, dafs der betreffende Nährboden, was meist üblich ist, mit Fleischextrakt versetzt war. Dieses enthält nämlich, wie wir zuerst durch Kutschers Arbeiten erfahren haben, Cholin und auch andere Basen mit Trimethylaminkern.

2) Das Betain wurde übrigens von E. Schulze (a. a. O. S. 55) in der Kartoffel vergeblich gesucht.

Über Stoffwechselvorgänge von Parasiten und Saprophyten, sowie über deren praktisch verwertbare Unterschiede behufs Differenzierung.

Von

Privatdozent Dr. **Wolfgang Weichardt.**

(Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Erlangen. Direktor: Prof. Dr. Heim.)

Die Erkennung, Überwachung und Belehrung der sogenannten Dauerausscheider ist bekanntlich eine aufserordentlich wichtige Aufgabe neuzeitlicher hygienischer Fürsorge. Um dieser Aufgabe nach allen Richtungen hin gerecht zu werden, bedarf es zunächst möglichst zuverlässiger und dabei praktisch leicht ausführbarer Methoden zur Erkennung der Parasiten und zur scharfen Differenzierung von den ihnen morphologisch zumeist sehr ähnlichen Saprophyten.

Bekanntlich haben auch schon die vielfach auf rein empirischem Wege gewonnenen Erfahrungen gewisse recht beachtenswerte Unterscheidungsmöglichkeiten der Parasiten und Saprophyten ergeben. Das hierbei vor allem in Frage kommende so wichtige elektive Wachstum, besonders der Parasiten, wurde verfeinert und auch praktisch noch brauchbarer gestaltet, als es gelang, über die rein chemischen Vorgänge von Wachstumsprozessen der Parasiten sowohl wie der Saprophyten mehr Klarheit zu gewinnen.

Zweifellos besteht, wie auch aus Folgendem hervorgeht, ein enger Zusammenhang zwischen der Wachstumsintensität eines Parasiten und der Anzahl und Anordnung der Bausteine, welche ihm im Nährboden zur Verfügung stehen. Am geeignetsten für das optimale Wachstum mancher Parasiten sind gewisse Körpereiweifse, deren Verbindungen oder Derivate.

Auf diesem Gebiete haben während der letzten Jahre vor allem die Forschungen von L. Heim (1) und von A. Dieudonné (2) bemerkenswerte Fortschritte gezeitigt. Heim fand im Blute bezw. im Hämoglobin ein für Cholera und ähnliche Vibrionen, sowie für Pneumoniekokken (3) und Cholerabazillen ganz besonders wachstumförderndes Mittel, Dieudonné (2), der dies bezüglich der Cholerabazillen bestätigte, wandte dann bekanntlich das Hämoglobin, und zwar in stark alkalischer Lösung, mit Erfolg an.

Ich habe mir nun die Frage vorgelegt, worauf die das Vibrionenwachstum befördernde Eigenschaft gerade des Hämoglobins beruht.

Diese Fragestellung war einer experimentellen Prüfung zugänglich:

Es wurden einige Liter Rinderblut nach der Methode von Nencki auf Hämatin verarbeitet. Aus dem umkristallisierten Präparate stellte ich mir einerseits Hämatin, anderseits Hämatoporphyrin dar.

Nunmehr wurde Hämatin und Hämatoporphyrin in den verschiedensten Mengenverhältnissen Gelatineröhrchen und Platten zugefügt, diese mit gleichen Mengen Kulturmasse aus einer gut gewachsenen Agarkultur von Vibrio Metschnikoff geimpft und das Wachstum in den nächsen Tagen kontrolliert.

Den Unterschied zwischen dem Wachstum in Stichkulturen[1]) auf gewöhnlicher Gelatine und auf solcher, der Hämatin oder auch Hämin zugesetzt war, illustriert folgender Versuch, welcher als Paradigma einer grofsen Reihe ähnlicher hier angeführt werden soll:

---

1) Die Platinnadel wurde bis zu einer Marke mit Kulturmasse von einer 24stündigen, gut bewachsenen Agarkultur ganz gleichmäfsig beladen.

Wachstumszeit bei 18° C	Durchmesser des oberen Randes des Verflüssigungstrichters in mm		
	10 ccm gewöhnliche Gelatine	10 ccm derselben Gelatine + 0,1 Hämin	10 ccm Gelatine + 0,1 Hämoglobin
3 × 24 Std.	2—3	5	5
4 × 24 »	4—5	7	6 ½—7
5 × 24 »	5	8—9	8—9
6 × 24 »	6	12	11—12
7 × 24 »	9	19	18—19
8 × 24 »	10	Die ganze obere Partie des Nährbodens verflüssigt	

Dementsprechend waren auch die Kolonien auf Platten mit Hämatingelatine üppiger. Ich fand das gleiche Verhalten, wie es L. Heim in seiner Arbeit »Zum Nachweis der Choleravibrionen« im Zentralblatt f. Bakt., Orig.-Bd. 30, S. 572, bezüglich der Vibrionenkolonien auf mit allen Blutbestandteilen versetzter Gelatine beschreibt.

Die Chlorverbindung des Hämatins, das Hämin, das ja leicht in gröfserer Menge gut kristallisiert zu erhalten ist, zeigte die gleichen wachstumbefördernden Eigenschaften wie das Hämatin und das Hämoglobin. Dagegen liefs sich in mit verschiedenen Mengen von Hämatoporphyrin versetzter Gelatine Wachstumsbeschleunigung im Vergleich zu gewöhnlicher Gelatine nicht feststellen. Im Gegenteil, es war bei stärkeren Konzentrationen eher Hemmung zu beobachten.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, dafs es nicht das Globin, der Eiweifsbestandteil des Hämoglobins ist, der für die Beförderung des Vibrionenwachstums wesentlich in Betracht kommt. Das globinfreie Hämatin zeigte die gleiche wachstumbefördernden Eigenschaften wie das ganze Hämoglobin. Wohl aber ist nach meinen Versuchen der Eisengehalt der Präparate für die Wachtumbeförderung der Vibrionen unbedingtes Erfordernis. Man wird wohl nicht fehlgehen, die Ursache der Wachstumbeförderung im in den eisenhaltigen Präparaten locker gebundenen *O* zu vermuten.

Wenn somit bei der Wachstumbeförderung von Vibrionen durch Hämoglobin, wie aus obigen Versuchen hervorgeht, dem geringen Eiweifsanteil des Zusatzes, dem Globin, besondere, das Vibrionenwachstum befördernde Eigenschaften nicht zukommen, ist es besonders für ein ausgiebiges Parasitenwachstum unbedingt nötig, dafs eine gewisse Menge höher molekularer Eiweifshydrolyseprodukte in den betreffenden Nährböden vorhanden sei.

Schon in der ersten Zeit bakteriologischen Forschens war ja festgestellt worden, dafs Zumischen von Pepton zu den Nährböden dem Wachstum pathogener Mikroorganismen förderlich ist. In der bakteriologischen Technik wird, wenigstens in Deutschland, das Pepton Witte sehr viel verwendet, nachdem es im Jahre 1888 O. Bujwid für die Nitrosoindolreaktion als brauchbarstes Peptonpräparat empfohlen hatte. L. Heim(4) nahm es dann im Jahre 1892 für die von ihm zuerst zum Nachweis der Cholerabazillen in Wasser angegebene Anreicherungsmethode, die bekanntlich im Zusatz von Pepton und Kochsalz zu gröfseren Mengen Wasser besteht, und R. Koch verwandte es 1893 zu demselben Zwecke.

Mir schien es nun vor allem wünschenswert, von den bei der Eiweifshydrolyse entstehenden Spaltprodukten zunächst die Peptone in bezug auf ihre wachstumfördernden Eigenschaften zu untersuchen, um namentlich einen Anhaltspunkt dafür zu gewinnen, ob es möglich sei, bestimmte Eiweifshydrolyseprodukte für die elektive Parasitendiagnose nutzbringend zu verwerten.

Irgend etwas über das Ausgangsmaterial und die Herstellungsart des so allgemein angewendeten Wittepeptons zu erfahren, gelang mir nicht; denn die Firma Witte, Rostock, verweigert hierüber jede Auskunft. Man arbeitet also bei Verwendung des Wittepeptons mit einem unbekannten, unkontrollierbaren Präparate und mufs sich lediglich auf die gleichmäfsige Lieferung der Firma verlassen, sicherlich ein wenig erfreulicher Zustand. Gerade wegen unserer geringen Kenntnis von dem Wesen dieses Präparates dürfte es vielleicht hier am Platze sein, über eine, streng genommen, aufserhalb des Rahmens dieser Arbeit liegende Eigenschaft des Wittepeptons zu berichten, nämlich darüber, dafs es

bei manchen Personen schon in sehr geringer Menge heftige Krankheitserscheinungen, die als Überempfindlichkeitsphänomene aufgefafst werden müssen, hervorruft. Es wäre interessant, wenn auch in anderen Laboratorien derartige Anaphylaxieen gegen das Präparat festgestellt und die Ergebnisse veröffentlicht werden könnten. Ist es doch nicht ausgeschlossen, dafs vor allem unter dem Personal der Laboratorien ab und zu vereinzelte Individuen sich befinden, welche über die Natur gewisser, ihnen wegen bestehender Peptonanaphylaxie erwachsenden Anfälle im unklaren sind, sich daher ohne Not vermeidbaren Unannehmlichkeiten aussetzen:

Herr H., Assistent am Institute, ein gesunder, kräftiger junger Mann, bemerkte, dafs er schon bei vorsichtigem Öffnen des Wittepeptongefäfses deutliches Jucken in der Nase verspürte, woraus sich später stets heftiges Niesen und quälender Husten entwickelte. Noch intensiver war die Wirkung, wenn H. ganz geringe Mengen des für anderen Personen vollkommen indifferenten Pulvers schnupfte. Die hiernach folgenden Anfälle raubten ihm die Nachtruhe und schwanden stets erst ganz allmählich.

Herr H. war so überempfindlich gegen Wittepepton, dafs er nach Betreten des Laboratoriums richtig angeben konnte, ob die für ihn nicht sichtbare Peptonflasche geschlossen war oder offen stand! Strich man ihm etwas Wittepepton auf die Hand, so entstand ein roter, juckender Fleck. Da alle Anzeichen von Nervosität fehlten, so bestand hier sicher ein reiner Fall von Anaphylaxie gegen Wittepepton. Das, wie später beschrieben werden soll, durch partielle Hydrolyse mittels $H_2 SO_4$ hergestellte Seidenpepton löste bei Herrn H., selbst wenn er gröfsere Quantitäten davon schnupfte, keinerlei Symptome aus. Auf Pepton Chapoteaut reagierte Herr H. nur ganz wenig. Ich halte es besonders um deswillen für wichtig, auf diesen Fall von Anaphylaxie gegen Wittepepton aufmerksam zu machen, weil eine frappante Ähnlichkeit bestand mit der bekannten, von mir wiederholt beschriebenen Heufieberanaphylaxie, an der aber Herr H. nicht litt.

In neuester Zeit ist von E. Abderhalden(5) zwecks biochemischer Untersuchungen ein Pepton aus Seide eingeführt worden, welches sich zur Identifizierung peptolytischer Fermente wertvoll erwiesen hat. Dieses Pepton unterscheidet sich vom Witteschen erheblich, besonders durch seinen hohen Tyrosingehalt.

Das Seidenpepton war nach Abderhaldenschen Angaben folgendermafsen hergestellt:

500 g Seide wurden mit 2500 ccm 70 proz. Schwefelsäure übergossen und das Gemisch bei Zimmertemperatur drei Tage lang gehalten. Nach kurzer Zeit war die Seide vollständig gelöst. Die Schwefelsäure wurde 72 Stunden nach dem Ansetzen quantitativ mit Baryt entfernt und das abfiltrierte Baryumsulfat wiederholt mit Wasser ausgelaugt. Die vereinigten Filtrate wurden dann im Vakuum etwa auf 5 l konzentriert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, scharf abgeprefst und in der üblichen Weise mit Baryt zerlegt. Zum Schlufs wurde der überschüssige Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt und das Filtrat vom Baryumsulfat unter vermindertem Druck auf ungefähr 150 ccm eingedampft. Die dickflüssige Masse wurde nun unter stetem Umrühren in absoluten Alkohol eingetropft. Es entstand eine flockige, fast farblose Fällung, die rasch abgesaugt wurde. Ausbeute: 100 g.

Das so gewonnene Pepton zeigte Biuret- und Millonsche Reaktion. Es trat nach Zusatz einer gesättigten Ammonsulfatlösung flockige Fällung auf. Durch gesättigte Kochsalzlösung trat eine Fällung nicht ein, sofort aber, wenn man noch verdünnte Salpetersäure dazu gab. Es waren also aussalzbare Peptone in reichlicher Menge vorhanden. Freie Aminosäuren konnten nicht nachgewiesen werden.

Dieses Pepton wurde nun an Stelle des Wittepepton zur Gelatinebereitung verwendet. Diese Gelatine sowie alle mit dem Seidenpepton hergestellten Nährböden fielen gegenüber dem mit Wittepepton hergestellten, bei sonst gleichen Mafsnahmen, aufserordentlich klar aus. Das Seidenpepton wirkte also geradezu klärend. Es wurden nun Aufschwemmungen von Typhus- und Kolibazillen in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und in verschiedenen Verdünnungen, sowohl mit Seidenpepton als auch mit Wittepepton, Gelatineplatten gegossen und später ausgezählt.

Es zeigte sich nun, dafs auf den Wittepeptonplatten sehr viel mehr Keime zur Entwickelung gekommen waren als auf den Seidenpeptonplatten.

Für Koli war der Unterschied geringer. Für Typhus dagegen liefsen sich starke Differenzen nachweisen, ja es schien, als wenn das Seidenpepton diesen Parasiten gegenüber geradezu hemmende Eigenschaften hätte:

Während z. B. aus 0,1 ccm einer bestimmten Aufschwemmung von Typhusbazillen 1652 Keime auf Wittepepton-Gelatine gewachsen waren, zählte ich bei Seidenpepton aus der gleichen Menge Aufschwemmung nur 50 Keime. Da ich die Dosierung mit der von mir angegebenen Mikroüberlaufpipette[1]) ausgeführt hatte, wobei die Fehler der parallaktischen Verschiebung in Wegfall kommen, so waren die Aussaatmengen absolut gleiche.

Bei den Kolibazillen waren die Unterschiedszahlen auf mäfsig bewachsenen Wittepepton- und Seidenpeptonplatten 179 und 140. Stärker bewachsene Platten wurden bei meinen Versuchen ausgeschaltet, weil ja bei diesen, worauf besonders L. Heim aufmerksam gemacht hat (6), die eigenen Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen das Wachstum stark hemmen, wodurch unter Umständen eine viel geringere Menge von Keimen in dem Ausgangsmateriale vorgetäuscht wird, als in der Tat vorhanden sind.

Um nun den Einflufs anderer Eiweifsarten auf das Wachstum dieser morphologisch sich so nahe stehenden Mikroorganismen auszuschliefsen, wurde sowohl eine alkalische Wittepepton- als auch eine alkalische Seidenpeptonlösung in Wasser hergestellt.

10 ccm der so hergestellten Peptonwässer wurden je mit einer 3 mm Öse einer sehr verdünnten Typhus- und einer Koliaufschwemmung geimpft, sodann 10 Stunden bei 37° gehalten. Die Kolibazillen hatten sowohl das Seidenpepton als auch das Wittepepton gleichmäfsig getrübt.

In den mit Typhusbazillen geimpften Peptonwässern war jedoch der Unterschied wiederum aufserordentlich deutlich: das Wittepeptonwasser war trüb, während das Seidenpeptonwasser zu derselben Zeit noch vollkommen klar schien. Erst nach 24 stündigem Wachstum zeigte sich auch im Seidenpepton geringe Trübung.

1) F. u. M. Lautenschläger, Berlin.

Endlich wurde noch Agar hergestellt teils mit dem gewöhnlichen Wittepeptonzusatz, teils ohne Pepton, teils mit Seidenpepton. Hier zeigte sich, bei gleicher Beimpfung mit Typhus, entsprechend dem früheren Versuche, ebenfalls ein gemindertes Wachstum auf dem mit Seidenpepton hergestellten Agar, während der ohne Peptonzusatz hergestellte mehr, der mit Wittepeptonzusatz hergestellte entschieden die meisten Kolonien aufwies. Streptokokken- und Pneumokokkenstämme, die ja erfahrungsgemäſs saphrophytisch schwieriger wachsen, waren auf den Seidenpeptonnährböden überhaupt nicht zum Wachsen zu bringen.

Wie verschieden die Wachstumsbedürfnisse einerseits eines Parasiten und anderseits eines ihm morphologisch fast vollkommen gleichenden Saprophyten sein können, zeigte sich an Kulturen des Milzbrandbazillus auf Seidenpeptonnährböden und eines milzbrandähnlichen Saprophyten. Dieser Bac. anthracoides war von Herrn Prof. Heim aus in fermentativer Verdauung befindlicher Muskelsubstanz eines Pneumokokkenkaninchens gewonnen. Er bildete Scheinfäden mit endogenen Sporen. Resistenz der Sporen 4 Min. +, nach längerer Aufbewahrung 2 Min + 3 Min. —, wie bei einem Vergleichs-MB-Stamm. Schlierenbildung auf Agar. Der Stamm läſst die Bouillon klar und wächst mit Bodensatz ohne Oberflächenhäutchen. Er bildet in Bouillon keine Säure. Bei Körpertemperatur bildete er etwas leichter Involutionsformen als der Milzbrandbazillus und die Kultur schien etwas trockener.

Es wurden nun je eine 3 mm-Öse eines Milzbrandstammes von einer 24stündigen Agarkultur auf Seidenpeptonwasser übertragen, ebenso eine 3 mm-Öse des Anthracoides.

Letzterer hatte schon nach 24 Stunden das Peptonwasser stark getrübt und zeigte lebhafte Vermehrung, während der Milzbrand sich in dem Seidenpeptonwasser nicht zu entwickeln vermochte. Dieses blieb vollkommen klar.

Es ergibt sich also, daſs das einfacher gebaute Seidenpepton für den Typhus- und für den Milzbrandbazillus, die für deren optimales Wachstum nötige Vielheit und Anordnung der Eiweiſsbausteine nicht besitzt, während es für die saprophytischen Kolibazillen und den Anthra-

coides ein den höher molekularen Peptonen fast gleichwertiges Nährmittel ist.

Da nach diesen Versuchen sich vermuten liefs, dafs in den Peptongemischen im allgemeinen die höher molekularen Bestandteile dem Wachstum eines Parasiten, wie des Typhusbazillus, fördernd sind, während die weniger hoch molekularen wohl für das saprophytische Bacterium coli und den Bacillus anthracoides noch genügen, für das Wachstum des Parasiten aber geradezu hindernde Gruppen besitzen, wurde versucht, aus dem das Wachstum der Parasiten im allgemeinen fördernden Gemisch des Wittepeptons durch Verarbeitung gröfserer Mengen wachstumshindernde Substanzen zu gewinnen.

Zu dem Zwecke wurden 40 g Wittepepton in der Kälte dialysiert und das Dialysatwasser in dem Faust-Heimschen Apparate[1]) zur Trockne gebracht. Es blieb 0,6 einer gelblich gefärbten Masse zurück. Diese löste sich in 2 ccm destilliertem Wasser trüb. Es wurde deshalb mit Wasser weiter verdünnt, mit etwas Tierkohle gekocht und filtriert. Das klare, strohgelbe Filtrat reagierte leicht sauer. Es wurde mit NaOH neutralisiert (Lackmus), im Faust-Heimschen Apparat auf 3 ccm eingeengt, nochmals klar filtriert und im Dampftopfe $^1/_2$ Stunde lang sterilisiert. Eine leichte Trübung, die eingetreten war, wurde durch nochmaliges Filtrieren beseitigt. Die Flüssigkeit blieb dann bei weiterem Verweilen im Dampftopfe klar. Sie drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

---

1) Der von der Firma F. & M. Lautenschläger in Berlin hergestellte Verdampfungsapparat nach Faust-Heim bezweckt, empfindliche Substanzen einzuengen und zu trocknen, ohne Verwendung eines Vakuums: Mittels eines elektrisch betriebenen Ventilators wird Luft, die vorgewärmt werden kann, in einen Kasten getrieben, der wie ein Brutschrank durch Wassermantel beliebig erwärmt werden kann. Der Innenraum ist für die Aufstellung von Schalen der Gröfse 19 × 25 cm ausreichend, zu denen der Luftstrom mittels Verteilungsvorrichtung zu jeder einzelnen geleitet wird. Da die Luft durch Watte filtriert wird, ist sie auch ohne Vorwärmung fast keimfrei. Bei 20° bringt man in der Stunde etwa 100 g Wasser zur Verdampfung, bei gesteigerter Wärme natürlich mehr. Man kann z. B. den Ventilator über Nacht gehen lassen und hat dann bei Zimmerwärme 1 l Wasser weggebracht.

Nunmehr wurde ein klares Bouillonröhrchen mit 0,1 und ein anderes mit 0,5 ccm dieser Flüssigkeit versetzt. Stellte man diese Bouillonröhrchen in den Dampftopf und kochte sie, so wurden beide trüb. Diese Trübungen waren durch Filtrieren leicht zu beseitigen. Jedoch zeigte sich der bemerkenswerte Unterschied, dafs das mit 0,5 ccm versetzte Röhrchen bei weiterem Erhitzen nunmehr dauernd klar blieb, während das mit 0,1 ccm versetzte Röhrchen bei weiterem Sterilisieren wieder trüb wurde. Diese neue Trübung konnte durch Filtrieren nochmals beseitigt werden, entstand aber bei weiterem Erhitzen aufs neue. Es beweist dieses Verhalten, dafs man es in diesen organischen Gemischen mit Reaktionen zu tun hat, die in bestimmten Konzentrationen bis zu irgendeinem Gleichgewicht verlaufen, das, falls es durch Filtrieren gestört wird, sich von neuem wieder einstellt. Nicht unwichtig sind derartige Verhältnisse für die Praxis der Nährbodenbereitung, da m. E. viele der beim Sterilisieren entstehenden und trotz Filtration immer wieder auftretenden Trübungen auf derartige Prozesse zurückzuführen sind.

Was die Natur unserer, aus dem Wittepeptondialysaten zu erhaltenden fällenden Substanzen anbetrifft, so handelt es sich um Gemische, in denen im wesentlichen Kalziumverbindungen vorhanden sind; denn das nach obiger Vorschrift hergestellte Wittepeptondialysat ergab aufserordentlich reichliche Niederschläge mit Ammoniumoxalat. Bemerkenswert ist es, dafs in anderen Peptonen, die ich untersuchte, z. B. in dem von Chapoteaut und in dem Pepton e carne Merck derartig dialysable, beim Erhitzen und Trübwerden der Bouillon veranlassende Substanzen nur in weit spärlicherem Mafse vorhanden waren.

Besonders auffallend war es, dafs die weniger hoch molekularen Peptone, die ich durch Dialysieren des Wittepeptons gewonnen hatte, das Wachstum, besonders von parasitären Keimen, in auffallender Weise hemmten:

Versuch.

Es wurde eine 3 mm Öse Typhusagarkultur in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und davon wiederum drei 3 mm Ösen in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung gegeben. Hiervon wurden drei Bouillon-

röhrchen mit je einer Öse geimpft, und zwar in das eine Bouillonröhrchen 0,5, in das zweite 0,1 ccm des oben beschriebenen sterilen Wittedialysates gegeben worden, wonach die Bouillon nicht erhitzt wurde, so dafs die Mischung klar blieb. Nach 24stündigem Wachstum bei 37° wurden mit 0,1 ccm der Bouillonröhrchen Zählplatten gegossen. Die mit den Wittepeptondialysaten versetzten Bouillonröhrchen waren vollständig steril geblieben, während die Kontrollbouillonröhre 2700 Kolonien in 0,1 ccm aufwies.

Es wurden nun sowohl mit 40 g Pepton Chapoteaut und 40 g Pepton e carne Merck Dialysate auf gleiche Weise hergestellt. Diese wiesen hemmende Wirkung gegen Parasiten nicht auf. Sie waren klar, bräunlich gefärbt und trübten beim Erhitzen die mit ihnen versetzte Bouillon nicht.

Ganz ähnlich verhielten sich auch Pepton König (Leipzig) gewonnene Dialysate. Von ihnen war die Ausbeute eine geringe. Auch hier wurde die mit diesem Dialysat versetzte Bouillon nicht getrübt. Das Parasitenwachstum erlitt erst bei Zusatz einer relativ grofsen Menge des konzentrierten Dialysates Hemmung. Setzte man geringere Mengen zu (0,1 ccm), so schien das Parasitenwachstum vielmehr etwas gesteigert.

Auch die aus Pepton Witte darstellbaren, das Bakterienwachstum hemmenden Substanzen wirken in der starken Verdünnung, wie sie bei dem in der Praxis üblichen Verfahren durch das zugesetzte Pepton Witte in die Nährböden gelangen, für gewöhnlich sicherlich nicht hemmend. Allerdings nur unter der Voraussetzung, dafs die verschiedenen Lieferungen des Präparates auch stets die gleiche geringe Menge der hemmenden Substanzen enthalten. Ob das immer der Fall ist, ob nicht sogar bisweilen doch bei längerer Aufbewahrung Entmischungen eintreten, scheint mir nicht bestimmt ausgeschlossen werden zu können. Vielleicht sind so manche plötzlich auftretende, scheinbar unerklärliche Fehlresultate beim Züchten subtiler Parasiten durch das Vorhandensein einer gröfseren Menge der hemmenden Substanzen in der zugesetzten Peptonmenge erklärlich. Trotz genauester Beachtung der bekannten bewährten Vorschriften und bei Verwendung des gleichen Fleischwassers werden dann also Fehlresultate eintreten können.

Wichtig scheint mir ferner, daſs aus dem Pepton Chapoteaut sowie aus dem Pepton e carne Merck Substanzen, die in der Bouillon beim Erhitzen Trübungen veranlassen, nicht in erheblicher Menge darstellbar waren. Auch scheint der in diesen Peptonen aus Fleisch vorhandene Farbstoff dem Wachstum vieler Parasiten förderlich zu sein. L. Heim hat bekanntlich, wie schon oben erwähnt, das dem Muskelfarbstoff verwandte Hämoglobin, welches sich auſserdem noch in jenen Fleischpräparaten vorfinden dürfte, als wachstumfördernd für Pneumokokken und Cholerabazillen erkannt.

Das Auftreten von vor allem das Parasitenwachstum so auſserordentlich hemmenden, weniger hochmolekularen Eiweiſsabspaltungsprodukten scheint mir nun der Grund für das sich allmähliche Mindern und Aufhören jeglichen Wachstums namentlich der Parasiten zu sein:

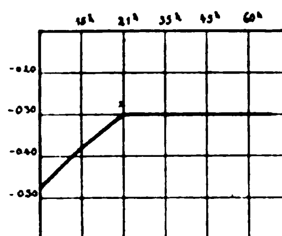
Ein derartiges Wachstum läſst sich in flüssigen, durchsichtigen Nährböden auſserordentlich gut mittels des Polarisationsapparates verfolgen. Diese Methode ist bekanntlich in letzter Zeit von E. Fischer und E. Abderhalden(7) zur Beobachtung des Ablaufes proteolytischer Fermentwirkungen eingeführt worden und wurde von Abderhalden als »optische Methode« bezeichnet:

Bekanntlich drehen Substanzen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen die Ebene des polarisierten Lichtes. Wirken nun auf eine linksdrehende Nährbodenlösung Bakterienfermente ein, so findet eine Drehungsänderung statt, die kurvenmäſsig festgelegt werden kann. Als sehr geeignet für derartige, länger dauernde Beobachtungen erwiesen sich typisch wachsende Stämme des Streptococcus longus. Diese wachsen bekanntlich in der Bouillon, welche sie klar lassen, mit Bildung eines Bodensatzes. In den Polarisationsröhren hat man bei Verwendung dieses Mikroorganismus neben der Möglichkeit einer fortlaufenden Beobachtung, da Trübungen des Nährmediums nicht eintreten, gleichzeitig eine Gewähr dafür, daſs Verunreinigungen nicht vorgekommen sind.

Zur Beobachtung wurden Polarisationsröhren mit umgebenden Wassermantel verwendet. Dieser war mit Wasser von 37° gefüllt.

Wie aus nachstehender Kurve ersichtlich, geht die Minusdrehung infolge Einwirkung des Wachstums dieses Streptococcus longus von — 0,50 bis — 0,30 zurück. Die Bouillon war dann gesäuert, und das Wachstum der Streptokokken hatte ein Ende; denn es trat in den nächsten 24 Stunden nicht die geringste Veränderung der Drehung des polarisierten Lichtes ein. Es wurde die leicht saure Bouillon in der Polarisationsröhre unter aseptischen Kautelen durch Zusatz von 0,05 ccm 33 % Natronlauge leicht alkalisch gemacht, nachdem vorher eine 3 mm Ose aus der Polarisations-

7 ccm Peptonbouillon (Wittepepton)
Streptococcus longus.
Eine 3 mm Öse einer gut gewachsenen 24 stündigen Bouillonkultur in die mit Alkohol und Äther sterilisierte Mantelröhre.



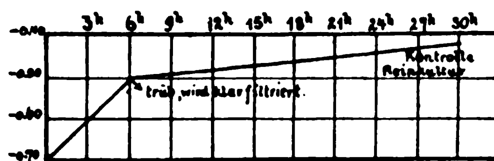
Kurve Nr. 1.

× Neutralisation der gebildeten Säure durch NaOH

röhre auf sterile Bouillon übertragen worden war. In dieser zeigte sich am nächsten Tage typisches Wachstum von Streptococcus longus. In der Polarisationsröhre dagegen war, obgleich nunmehr auch diese Bouillon wieder leicht alkalisch gemacht worden war, keine weitere Veränderung in der Untersuchungsflüssigkeit eingetreten. Es wird also auch durch diese Untersuchungsmethode bestätigt, dafs es nicht allein die Säuerung der Bouillon sein kann, welche das Wachstum derartiger, saprophytisch überhaupt nicht allzu reichlich wachsender Parasiten ganz zum Stillstand bringt. Man wird wohl nicht fehl gehen, wenn man annimmt, dafs vor allem weniger hochmolekulare Eiweifsspaltprodukte, wie sie oben beschrieben worden, die natürlich beim Abbau der Eiweifse durch die Fermenttätigkeit der wachsenden Mikroorganismen entstehen, für diese Wachstumshemmung verantwortlich gemacht werden müssen.

Mit Hilfe der optischen Methode wurde nun das Wachstum des Typhusbazillus in Peptonbouillon (Wittepepton) bei reichlicher Einsaatmenge verfolgt:

Wir sehen in den ersten drei Stunden eine rasche Abnahme der linksdrehenden Gruppen, die bei weiterem Wachsen des Bazillus und beim Auftreten weniger hochmolekularer Spaltprodukte langsamer vor sich geht. Diese und die folgenden Polarisationen wurden meist bei Auerlichtbeleuchtung unter Vorschalten des Kaliumbichromatfilters ausgeführt. Traten Trübungen auf, so war die Möglichkeit gegeben, mittels Nernstlichtes noch weitere Beobachtungen anzustellen. Später wurde die getrübte Bouillon rasch durch kleine trockne Porzellanfilter geschickt.



Kurve Nr. 2.

4 ccm Peptonbouillon (Wittepepton) Typhus H. (frisch aus Stuhl gezüchtet). Eine 3 mm Öse in 1 ccm physiol. Na Cl Lösung verrieben, davon 3 mm Ösen in die mit Alkohol und Äther sterilisierte Mantelröhre.

Setzte man nach der ersten Stunde, nachdem schon deutliche Abnahme der Minusdrehung durch das Typhusbazillenwachstum zu konstatieren war, etwas hochwertiges Agglutininimmunserum eines mit Typhusbazillen behandelten Kaninchens der Polarisationsröhre zu, so war keine weitere Abnahme der Minusdrehung in den nächsten Stunden zu konstatieren. Ich bin geneigt, dieses Verhalten auf Antifermentgehalt des Typhusserums zurückzuführen.

Es war nun aufserordentlich wichtig, festzustellen, ob auch die Fermente aus dem Bazillenleibe des Parasiten einerseits und des Saprophyten anderseits in ihrem Verhalten dem Seidenpepton gegenüber ebenfalls Differenzen zeigen würden, den Wachstumsintensitäten dieser beiden, morphologisch sich so nahestehenden Mikroorganismen in diesen Eiweifshydrolyseprodukten entsprechend.

Die Darstellung der Fermente geschah auf folgende Weise:

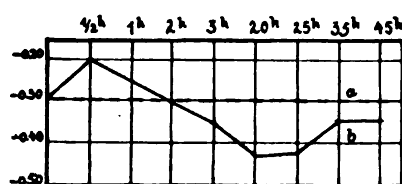
Je eine Drigalski-Schale wurde mit 0,5 ccm einer 24 stündigen Bouillonkultur übergossen und das Material sorgfältig über die Oberfläche verteilt.

Nach 2 mal 24 stündigem Wachstum wurden die ziemlich gleichmäfsig bewachsenen Platten mit je 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung übergossen und die Kultur mit dünner Nadel sorgfältig abgekratzt.

Diese Operation wurde noch zweimal mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung wiederholt.

Die erhaltene 30 cm betragende Aufschwemmung wurde mit 100 g Kieselgur gut gemischt und der Teig in der Buchnerpresse unter einem bis 350 Atmosphären wachsenden Druck ausgeprefst. Der Prefssaft wurde sodann durch eine kleine Reichelkerze filtriert und das Filtrat nochmals durch eine Reichelkerze geschickt. Ausbeute 6,5 ccm.

Von dem Typhus- sowie von dem Koli-Prefssaft wurde je 1 ccm 7 Kubikzentimetern 10proz. Seidenpeptonlösung zugefügt und in einer Polarisationsröhre mit Wassermantel bei 37° beobachtet. Über dem Gemisch befand sich in der Polarisationsröhre eine Schicht Toluol.



a) 1 ccm Typhusprefssaft, 7 ccm 10proz. Seidenpeptonlösung.
b) 1 ccm Koliprefssaft, 7 ccm 10proz. Seidenpeptonlösung.

Kurve Nr. 3.

Die Kurve zeigt, dafs wohl im Koliprefssaft genügende Mengen Seidenpepton verändernder Fermente vorhanden waren, nicht aber in dem nach unserer Technik hergestellten Typhusprefssaft.

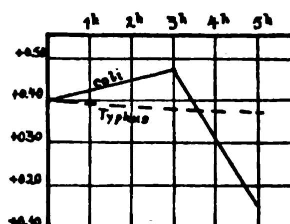
Hiermit ist natürlich nicht gesagt, dafs die in unserem Prefssaft befindlichen Fermente den im lebenden Bazillenleib vorhandenen gleich zu setzen seien. Erst neuerdings haben Abderhalden und Pringsheim(8) wieder auf bemerkenswerte Unterschiede der in den Prefssaft übergehenden Fermente und

derjenigen, die in der Kieselgurmasse zurückbleiben, hingewiesen.

Während die Kurve Nr. 2 das intensive Wachstum des Typhusbazillus in mit höhermolekularem Pepton versetztem Fleischwasser in unserer Bouillon veranschaulicht, zeigt Kurve Nr. 4, daſs dieses Wachstum sofort in den ersten Stunden ein äuſserst geringes ist, wenn man zu dem alkalischen, mit Kochsalz versetzten Fleischwasser kein Pepton fügt. Diesem Fleischwasser war gleichzeitig, um einen Einblick in die Wachstumsverhältnisse auf den jetzt so verbreiteten v. Drigalskischen Nährboden zu bekommen, 1,5% Milchzucker zugesetzt worden.

Das Gemisch drehte infolgedessen die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Nach 1 stündiger Sterilisation und nachdem die Bouillon bis zum nächsen Tage erkaltet war, war Birotation

7 ccm Fleischwasserbouillon ohne Peptonzusatz, aber mit 1,5 proz. Milchzucker, die eine Röhre mit Typhus (H), die andere mit Koli beimpft.



Kurve Nr. 4.

in der ungeimpften, klaren Bouillon nicht mehr nachzuweisen, d. h. die Drehung änderte sich, wenn die Bouillon steril blieb, in den nächsten Tagen nicht.

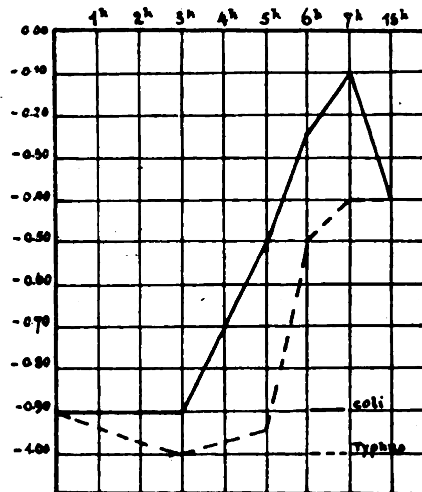
Während nun in der mit Bacterium coli beimpften Polarisationsröhre die positive Drehung in den ersten Stunden beträchtlich zunahm, entsprechend dem Zerfall des Milchzuckers in seine rechtsdrehenden Komponenten, war in dem Typhusröhrchen, entsprechend dem geringen Wachstum des Typhusbazillus, beim Fehlen von Pepton eine wesentliche Änderung überhaupt nicht erfolgt.

Nach der dritten Stunde war, wie die Kolikurve zeigt, der Zerfall des Milchzuckers in seine rechtsdrehenden Komponenten im wesentlichen beendet, und nun begann der weitere Abbau des optisch aktiven Zuckers in optisch inaktive Produkte und damit ein rasches Fallen unserer Kurve.

Das Bild änderte sich aber sofort, als dem Nährboden in dem für die Drigalskibouillon gebräuchlichen Verhältnisse Pepton und Nutrose zugesetzt worden war. Dazu fügte ich noch zwei Eiereiweiſse, teils um eine vollständige Klärung für die Polarisation zu erzielen, teils um noch mehr für den Parasiten günstige Gruppen einzufügen.

Bei diesem Versuche trat nunmehr auch in dem Typhusröhrchen nach wenigen Stunden, trotz geringer Einsaatmenge ($^1/_3$ des Versuches Nr. 3), intensives Wachstum ein, was sich an der auftretenden Trübung erkennen lieſs. Trotzdem konnte

7 ccm Fleischwasserbouillon mit Pepton, Nutrose, Eiweiſs u. 1,5 proz. Milchzucker, beimpft mit Typhus H. und Koli.



Kurve Nr. 5.

man unter Verwendung von Nernstlicht die Drehungsänderung noch einige Stunden gut verfolgen.

Wir sehen nun nach lebhafter eingetretenem Wachstum in beiden Kulturen eine konstante intensive Abnahme der im Anfang in diesem Gemisch vorhandenen Minusdrehung eintreten. Diese kann auch beim Typhusbazillus nicht allein auf der Abnahme linksdrehender Gruppen in der Peptonbouillon beruhen (cf. Kurve Nr. 2), sie ist viel hochgradiger. Es scheint also auch der Typhusbazillus sehr wohl Milchzucker zu zerlegen, und zwar in die rechtsdrehenden Zuckerarten. Diese Zerlegung hat allerdings bald ein Ende mit dem Auftreten weniger hochmolekularer Eiweiſsspaltprodukte, die ja, wie wir oben gesehen haben,

gerade dem ungestörten Gedeihen des Typhusbazillus besonders schädlich sind.

Am nächsten Tage wurden die Kulturen rasch durch kleine trockene Porzellanfilter geschickt, sodafs eine vergleichende Ablesung wieder möglich war. Die Kolikurve zeigt nun wieder eine Zunahme der Linksdrehung, da, ganz wie bei Kurve Nr. 4, der Milchzucker nunmehr in nicht drehende Komponenten zersetzt worden war. Beim Typhus war dieser letztere Prozefs so gering, dafs gerade die geringe Abnahme bei Linksdrehung in der Bouillon (vgl. Wachstumskurve Nr. 2) paralysiert wird.

Ganz diesen Befunden entsprechend war in der Kolikultur kein Zucker mehr nachweisbar, dagegen fand er sich reichlich in der Typhuskultur (Trommersche Probe).

Literatur.

1. Heim L., Zum Nachweis der Choleravibrionen. Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig.-Bd. XXX, S. 570.
2. Dieudonné A., Blutalkaliagar, ein Elektivnährboden für Choleravibrionen.
3. Heim L., Über Pneumoniekokken. Deutsche med. Wochenschrift 1907, Nr. 39, S. 1587.
4. Heim L., Zur Technik des Nachweises der Choleravibrionen.
5. Abderhalden E. u. Weichardt W., Zeitschr. f. physiol. Chemie 1909, Bd. 59, Heft 2, S. 174.
6. Heim L., Lehrbuch der Bakteriologie. Stuttgart, Ferd. Enke.
7. Abderhalden E., Zeitschr. f. physiol. Chemie 1908—10.
8. Derselbe und Pringsheim, ebenda Bd. 65, Heft 2, S. 180.

Kritische Bewertung einiger Methoden zur Bestimmung der Härte des in der Natur vorkommenden Wassers.

Die Wartha-Pfeiffersche Methode und ihre Modifikation.

Von

Assistent **J. M. Silber.**

(Aus dem hygienischen Laboratorium der Universität Charkow.)

Als eine der verbreitetsten und ältesten Methoden der Härtebestimmung des Wassers erscheint das Titrieren desselben mit alkoholischer Seifenlösung. Die Seifenprobe stellt nur eine schnelle Methode der Härtebestimmung dar, hauptsächlich da, wo es an einem gut eingerichteten Laboratorium mangelt, oder aber bei wiederholten Untersuchungen ein und desselben Wassers.

Die Seifenmethode liefert, abgesehen davon, daſs überhaupt die verbrauchte Menge Seifenlösung nicht der im Wasser vorhandenen Menge der Erdalkalimetalle entspricht, absolut falsche Resultate, wenn das Wasser eine gröſsere oder geringere Menge Magnesiasalze enthält, da man in diesem Falle schon einen Trugschaum erhält, bevor noch alle Erdkalimetalle gefällt sind. Dieser Schaum, welcher bei weiterem Zusatz von Seife verschwindet, dient oft als Quelle eines groben Fehlers. Als eine andere Fehlerquelle erscheint nach Blaus Beobachtung das Vorhandensein von freier Kohlensäure im Wasser: je mehr Kohlensäure in demselben vorhanden ist, desto bedeutender ist der Fehler.

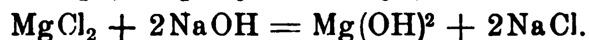
Der Empirismus und die Ungenauigkeit der Härtebestimmung des Wassers mittels der Seifenprobe haben die Forscher in letzter Zeit veranlaſst, andere chemische Verfahren anzuwenden, welche sich mehr oder weniger genau der gewichtsanalytischen Bestimmung nähern. Eines dieser Verfahren ist die Warthasche Methode, welche gegenwärtig weite Verbreitung gefunden hat. Wartha hat seine Methode in ungarischer Sprache beschrieben, und deshalb wurde dieselbe erst dank einer Arbeit Pfeiffers[1]) bekannt, die in deutscher Sprache publiziert wurde. Pfeiffer wandte in seiner Arbeit über die Verbesserung der Härte des Wassers die Warthasche Methode an, weshalb auch die Methode selbst in der Literatur unter dem Namen der Pfeifferschen oder Wartha-Pfeifferschen bekannt ist.

Die Warthasche Methode zur Bestimmung der transitorischen Härte besteht in folgendem: 100 ccm Wasser werden unter Zusatz einiger Tropfen 0,25% alkoholischer Alizarinlösung mit $^n/_{10}$ HCl titriert, bis gelbe Färbung eintritt. Das Gemisch wird darauf erwärmt und wiederum $^n/_{10}$ HCl hinzugefügt so lange, bis beim Kochen das Gelb nicht mehr verschwindet: die verbrauchte Zahl Kubikzentimeter $^n/_{10}$ HCl (Zahl A) multipliziert mit 2,8 ($^n/_{10}$ Titer von CaO) ergibt die transitorische Härte.

In dem auf diese Weise neutralisierten Wasser sind alle Bikarbonate in Chlorverbindungen übergegangen, die sich durch Alkali leicht ausfällen lassen. Bei der Wahl des Alkali wandte Wartha und später auch Pfeiffer ein Gemisch von Soda und Natronlauge an, da einerseits durch letztere das Magnesiumhydroxyd gefällt wird, anderseits die Soda den fast unlöslichen kohlensauren Kalk und die basische kohlensaure Magnesia ergibt, wie dieses aus folgender Gleichung ersichtlich ist:



$$CaCl_2 + Na_2CO_3 = CaCO_3 + 2NaCl.$$



$$MgCl_2 + 2NaOH = Mg(OH)^2 + 2NaCl.$$

Diese Fällungsmethode der alkalischen Erden verwertend, versetzte der Autor das neutralisierte Wasser, welches man bei der Bestimmung der transitorischen Härte erhalten hatte, mit

1) Pfeiffer, Zeitschr. f. angewandte Chemie, 1902. 9, 198.

einem Überschufs eines $^{n}/_{10}$ Alkaligemisches, bestehend aus gleichen Teilen $^{n}/_{10}$ Sodalösung und Natronlauge.

Nach Zusatz dieses Gemisches wird die Flüssigkeit 5 Min. gekocht und in einen Mefszylinder mit Glaspfropfen gespült, nach Abkühlen bis zur Zimmertemperatur mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, geschüttelt und 100 ccm des Filtrates mit $^{n}/_{10}$ Salzsäure in der Kälte titriert, wobei Methylorange als Indikator dient, bis zur Rötung. Die Zahl der verwandten Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$ HCl, multipliziert mit 2 und subtrahiert von der hinzugefügten Menge des Alkaligemisches in Kubikzentimeter, stellt die Alkalimenge dar (Zahl *B*), die zur Fällung der alkalischen Erden nötig war, und deshalb stellt die Zahl *B*, multipliziert mit 2,8, die Ziffer der Gesamthärte des untersuchten Wassers dar.

Die Pfeiffersche oder richtiger Wartha-Pfeiffersche Methode wurde in dem hygienischen Institut Prof. Rubners von dem Chemiker P. Nawiasky und von Dr. S. W. Korschun[1]) nachgeprüft, wobei diese die vollkommene Brauchbarkeit der Methode bestätigten. Allein bei dieser Nachprüfung wurde mit künstlichen Salzlösungen in destilliertem Wasser gearbeitet, welche mit dem in der Natur vorkommenden Wasser nicht identisch waren. Dieses veranlafste die Privatdozenten W. W. Favre und S. W. Korschun, mir den Vorschlag zu machen, vor Einführung dieser Härtebestimmungmethode im hygienischen Laboratorium der Universität Charkow dieselbe bei Untersuchungen natürlicher Wässer verschiedenen Ursprungs einer Nachprüfung zu unterziehen.

Wenn man die Warthasche Methode kennen lernt, fallen a priori einige Mängel derselben auf, welche in der irrigen Voraussetzung bestehen, dafs das in der Natur vorkommende Wasser kohlensaure Verbindungen nur in Form von Kalzium- und Magnesiumbikarbonaten enthalte, und dafs auf diese Art bei Titration des Wassers mit $^{n}/_{10}$ Salzsäure die letztere ausschliefslich mit diesen in Wechseleinwirkung trete. Wenn man aber in Betracht zieht, dafs die verschiedenen Arten des Trinkwassers und be-

1) P. Nawiasky und S. Korschun, Archiv f. Hygiene. Bd. LXI.

sonders die Mineralwässer, wie z. B. die alkalisch-kohlensauren, alkalisch-erdigen, die kohlensäurehaltigen Eisenwässer, in der Mehrzahl der Fälle auch Bikarbonate der Alkalimetalle und des Eisens enthalten, so mufs man auch die vollkommene Möglichkeit der Wechseleinwirkung der Säure mit diesen Verbindungen zulassen; die Folge hiervon wird ein überschüssiger Verbrauch der Säure zur Neutralisierung des Wassers sein, und daher auch eine höhere, der Wirklichkeit nicht entsprechende Ziffer der transitorischen Härte.

H. Noll[1]) erkennt in seinem Referat über die Arbeit P. Nawiaskys und S. Korschuns die Verwendbarkeit der Bestimmungsmethode der transitorischen Härte nach Wartha-Pfeiffer nur dann an, wenn das Wasser kein kohlensaures Alkali enthält.

M. Mayer und E. Kleiner[2]) halten die Bestimmungsmethode der Gesamthärte nach Wartha-Pfeiffer für vollkommen brauchbar, dagegen die Bestimmung der transitorischen Härte nach dieser Methode für illusorisch.

Auf diese Weise können, wenn in dem zu untersuchenden Wasser eine bedeutende Menge kohlensauren Alkalis bei relativ geringem Gehalt an Kalk- und Magnesiumsalzen vorhanden ist, Fälle beobachtet werden, wo die transitorische Härte bei Anwendung der Wartha-Pfeifferschen Methode die Ziffer der Gesamthärte übertrifft: der Teil ist folglich hier gröfser als sein Ganzes.

Aus Tabelle I ist zu ersehen, dafs solche Fälle vollkommen möglich sind, durchaus nicht vereinzelt dastehen und bei Wässern verschiedensten Ursprungs vorkommen.

Um die Fehlerquelle festzustellen, welche diese theoretisch ausgesprochene Voraussetzung bestätigen könnte, wurde eine Portion Wasser mit $^{n}/_{10}$ Salzsäure titriert, die andere aber zwecks Zersetzung der Bikarbonate der alkalischen Erden $^{1}/_{2}$ Stunde ge-

1) H. Noll, Zeitschr. f. angewandte Chemie 1907, S. 1900.

2) M. Mayer und E. Kleiner, Journal f. Gasbeleuchtung 1907. H. 15—16, S. 317.

kocht. Das Filtrat wurde nach Zusatz von 3 Tropfen Methylorange mit $^{n}/_{10}$ Salzsäure titriert, in allen Fällen wurde zur Neutralisierung des Filtrats eine gewisse Menge Säure verwandt, was als Hinweis auf das Vorhandensein von kohlensaurem Alkali im Wasser dienen kann.

Tabelle I.

Ursprung des Wassers	Zahl A. Menge ccm $^{n}/_{10}$ HCl auf 100 ccm Wasser	Transitorische Härte A × 2,8	Zahl B. Menge ccm $^{n}/_{10}$ Alkaligemisch auf 100 ccm Wasser	Gesamthärte B × 2,8
Artesisches Wasser	5,9	16°, 52	5,8	16°, 24
	5,2	14°, 56	4,0	11°, 2
	7,5	21°, 0	8,0	22°, 4
	5,5	15°, 4	5,0	14°, 0
	5,7	15°, 96	5,6	15°, 68
	5,8	16°, 24	5,6	15°, 68
	4,3	12°, 04	3,4	9°, 52
Quellwasser	6,8	19°, 04	5,0	14°, 0
	4,0	11°, 2	2,4	6°, 72
	5,6	15°, 68	4,4	12°, 32
Flufswasser	6,8	19°, 04	6,4	17°, 92
	10,6	29°, 68	9,2	25°, 76
	9,6	26°, 88	9,0	25°, 2
Schachtwasser	5,9	16°, 52	4,8	13°, 44
	12,2	34°, 16	9,6	26°, 88
Brunnenwasser	11,6	32°, 48	8,4	23°, 52
Wasserleitung Charkow	5,6	15°, 68	5,4	15°, 12
Abessinisches Wasser	10,85	30°, 48	6,5	18°, 2

Das Kochen des Wassers wurde sowohl bei diesen Versuchen, als auch bei allen unten angeführten Untersuchungen in Gefäfsen aus Jenaer Glas vorgenommen, welches bei der Nachprüfung während des Kochens kein Alkali abgab. Zieht man von der zur ersten Neutralisation des Wassers verbrauchten Zahl Kubikzentimeter Säure die Säure in Kubikzentimeter ab, welche zur Neutralisation des Filtrates nach dem Kochen nötig war, so drückt der Unterschied die wahre Ziffer der transitorischen Härte aus.

Parallel mit dieser modifizierten Bestimmung der transitorischen Härte wurde letztere auch auf direktem Wege bestimmt, d. h. der Niederschlag der Erdalkalikarbonate nach $^1/_2$ stündigem Kochen des untersuchten Wassers wurde im Kolben (zusammen mit dem Filter), in dem das Kochen vorgenommen wurde, mit einem Überschufs $^n/_{10}$ Salzsäure begossen, welche später mit dem $^n/_{10}$ Alkaligemisch abtitriert wurde: die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_{10}$ Salzsäure, die zur Zersetzung der Kalk- und Magnesiakarbonate verwandt wurden, multipliziert mit 2,8, stellt die transitorische Härte dar. Wie aus Tabelle II zu ersehen ist, nähert sich die nach der modifizierten Methode erhaltene Ziffer der transitorischen Härte stark der Ziffer, welche bei der direkten Bestimmung erhalten wurde, während die transitorische Härte nach Wartha-Pfeiffer stets einen Unterschied von einigen Graden ergibt, und zwar immer zur Seite des Plus hin.

Die direkte Bestimmung der transitorischen Härte, d. h. die unmittelbare Bestimmung der beim Kochen des Wassers gefällten Karbonate durch Titrieren mit der Säure, hat den Vorzug, dafs hier keinerlei Zufälle vorkommen können, da hierbei nur die Karbonate der alkalischen Erden in Wechseleinwirkung mit der Säure treten, deren Überschufs mit Alkali abtitriert wird.

Bei der Anwendung der Wartha-Pfeifferschen Methode werden von diesen Autoren 2 Indikatoren empfohlen: Alizarin für die transitorische und Methylorange für die Gesamthärte.

Das Alizarin erscheint als gänzlich überflüssig, da sich, wenn man mit Methylorange allein in beiden Fällen manipuliert, die Bestimmung bedeutend vereinfachen läfst, ohne dafs die Genauigkeit dabei beeinträchtigt wird; ganz abgesehen davon, dafs das Zusetzen zweier Indikatoren zur titrierten Flüssigkeit bei ungenügender Übung oder bei einem Überschufs derselben den Moment der Beendigung der Reaktion selbst undeutlich machen kann.

Die Verwendung von Methylorange bei der Bestimmung der transitorischen Härte empfehlen sowohl Lehmann als auch Noll.

Tabelle II.

Ursprung des Wassers	Zahl A	Transitorische Härte A × 2,8	Zahl C	Transitorische Härte nach der modifizierten Methode (A—C) × 2,8	Direkte Bestimmung der transitor. Härte
Flufswasser	3,1	8 °, 68	0,8	6 °, 44	6 °, 72
	4,4	12 °, 32	0,9	9 °, 8	9 °, 8
	6,8	19 °, 04	1,5	14 °, 84	14 °, 0
	6,2	17 °, 36	1,1	14 °, 28	14 °, 56
	5,6	15 °, 68	1,1	12 °, 6	12 °, 68
	6,6	17 °, 68	2,2	12 °, 32	12 °, 88
	10,6	29 °, 68	2,2	20 °, 72	21 °, 28
	9,6	26 °, 88	1,5	22 °, 68	23 °, 24
Artesisches Wasser	5,5	15 °, 4	1,4	11 °, 48	11 °, 76
	5,3	14 °, 84	1,5	10 °, 64	11 °, 48
	5,8	16 °, 24	1,3	12 °, 6	13 °, 44
	5,7	15 °, 96	1,3	12 °, 32	12 °, 88
	4,3	12 °, 04	0,9	9 °, 52	9 °, 24
	4,1	11 °, 48	0,7	9 °, 52	9 °, 24
	4,3	12 °, 04	0,9	9 °, 52	9 °, 24
Brunnenwasser	0,5	1 °, 4	0,3	0 °, 56	0 °, 56
	6,4	17 °, 92	0,7	15 °, 96	16 °, 24
	5,8	16 °, 24	4,6	3 °, 36	3 °, 64
	11,6	32 °, 48	2,6	25 °, 2	24 °, 64
Quellwasser	4,0	11 °, 2	2,1	5 °, 32	5 °, 6
	6,8	19 °, 04	2,3	12 °, 6	12 °, 88
	5,6	15 °, 68	2,2	9 °, 52	9 °, 52
Wasserleitung	5,6	15 °, 68	1,7	10 °, 92	11 °, 48
	5,6	15 °, 68	1,1	12 °, 6	12 °, 6

Ein sehr wichtiger Vorzug des Methylorange als Indikator besteht darin, dafs dasselbe der Kohlensäure gegenüber vollständig unempfindlich ist, und auf diese Art wird bei der Bestimmung der kohlensauren Verbindungen das Titrieren mit der Säure in der Kälte vorgenommen, während bei Alizarin die titrierte Flüssigkeit bis zur völligen Ausscheidung des Kohlenanhydrids, welches aus ihr durch die Salzsäure verdrängt wird, gekocht werden mufs.

Ich führte parallel die Titration ein und desselben Wassers mit beiden Indikatoren aus, mit dem wesentlichen Unterschiede aber, daſs ich bei Methylorange in der Kälte titrierte, bei Alizarin die Flüssigkeit einige Minuten kochte, und erhielt dabei ganz gleiche Resultate, wie dieses aus Tabelle III ersichtlich ist.

Tabelle III.

Ursprung des Wassers	Menge des zur Untersuchung genommenen Wassers	Menge $^n/_{10}$ Salzsäure in ccm — Indikatoren: Alizarin	Methyl-orange
Fluſswasser	100 ccm	4,7	4,7
Quellwasser	»	6,8	6,8
Wasserleitung	»	5,8	5,8
Brunnenwasser . . .	»	7,4	7,4
Brunnenwasser . . .	»	2,0	2,0
Brunnenwasser . . .	»	4,8	4,8
Brunnenwasser . . .	»	6,0	6,0
Brunnenwasser . . .	»	0,8	0,8

Es existiert eine ganze Reihe Wässer, in denen die schwefelsauren und Chlorverbindungen von Kalk und Magnesia vorherrschen, die also folglich eine geringe transitorische Härte haben; bei diesen Wässern ergibt die Warthasche Methode keine direkt widersprechenden Resultate und übersteigt hier die Ziffer der transitorischen Härte nicht die der Gesamthärte.

Führt man aber parallel mit der transitorischen Härte nach der Warthaschen Methode die Bestimmung derselben nach der modifizierten oder direkten Methode aus, so tritt auch hier deutlich die Fehlerhaftigkeit der Warthaschen Methode zutage, wie das aus Tabelle IV ersichtlich ist.

Die Bestimmung der Gesamthärte beruht auf der Fällung von Magnesiumhydroxyd und kohlensaurem Kalk aus dem mit Salzsäure neutralisierten Wasser.

Eine solche Härtebestimmung hat den Vorzug für sich, daſs nicht die erhaltenen Niederschläge der alkalischen Erden, sondern nur die zur Ausfällung derselben erforderliche Alkalimenge

Tabelle IV.

Ursprung des Wassers	Zahl A. Menge $^n/_{10}$ HCl in ccm	Transitorische Härte nach Wartha A × 2,8	Zahl C. Menge $^n/_{10}$ HCl in ccm zum Filtrat	Transitorische Härte nach der modifizierten Methode (A−C) × 2,8	Direkte Bestimmung der transitorischen Härte	Gesamthärte nach Wartha: B × 2,8
Artesisches Wasser	6,1	17°, 08	1,2	13°, 92	14°, 0	39°, 2
	5,5	15°, 4	1,4	11°, 48	12°, 32	44°, 8
	6,4	17°, 92	1,0	15°, 12	15°, 68	47°, 6
	27,4	76°, 72	4,8	63°, 28	61°, 6	84°, 0
	6,4	17°, 92	1,2	14°, 56	15°, 12	25°, 2
	10,6	29°, 68	1,4	25°, 76	26°, 32	69°, 7
	6,0	16°, 8	1,6	12°, 32	12°, 28	39°, 2
	6,1	17°, 08	0,9	14°, 56	14°, 0	28°, 82
	6,1	17°, 08	0,9	14°, 56	14°, 28	30°, 08
	4,1	11°, 48	0,7	9°, 52	9°, 24	15°, 12
Brunnenwasser	6,0	16°, 8	0,6	14°, 92	14°, 84	22°, 9
	9,0	25°, 2	1,4	21°, 28	21°, 28	78°, 4
	7,8	22°, 24	0,8	19°, 6	20°, 1	47°, 4
Abessinisches Wasser	5,4	15°, 12	0,8	12°, 48	13°, 54	35°, 84

bestimmt wird, wobei der Überschuſs des hinzugefügten $^n/_{10}$ Alkali leicht mit $^n/_{10}$ Salzsäure abtitriert werden kann.

Zwecks Feststellung der Brauchbarkeit dieser Methode wurde in den verschiedenen Wässern der Kalk- und Magnesiagehalt bestimmt und darauf die Gesamthärte abgezogen, um einen Vergleich mit der nach der Wartha-Pfeifferschen Methode erhaltenen Härteziffer anzustellen.

Von 25 Analysen betrug der Fehler nach + und — hin in 15 Fällen weniger als 1°, in 6 Fällen 1°—2° und in 4 Fällen 2°—3° (Tabelle V) — ein Fehler, der durchaus zulässig ist; die Methode der Bestimmung der Gesamthärte nach Wartha erweist sich als durchaus brauchbar bei der Untersuchung des in der Natur vorkommenden Wassers.

Bei der Anwendung der Wartha-Pfeifferschen Methode mit den von uns vorgenommenen Modifikationen sind folgende Reagenzien nötig: 0,2% wässerige Methylorangelösung, $^n/_{10}$ Salzsäurelösung und Pfeiffersches $^n/_{10}$ Alkaligemisch. Das aus gleichen

Tabelle V.

Ursprung des Wassers	CO in Milligramm in 1 l Wasser	MgO in Milligramm in 1 l Wasser	Härte in deutschen Graden	Härte nach Wartha B × 2,8	Unterschied
Artesisches Wasser	120,0	28,8	16°, 03	16°, 24	+ 0,21
	76,0	47,5	14°, 25	13°, 44	— 0,79
	76,4	37,4	12°, 8	11°, 2	— 1,6
	150,0	90,0	27°, 6	26°, 88	— 0,72
	120,0	28,8	16°, 03	16°, 52	+ 0,49
	164,0	36,0	21°, 44	22°, 4	+ 0,96
	120,0	30,24	16°, 23	16°, 24	+ 0,01
	136,0	83,04	18°, 25	15°, 68	— 2,57
Abessinisches Wasser	120,0	27,4	15°, 84	18°, 20	+ 2,36
	164,0	21,6	19°, 4	20°, 16	+ 0,76
	220,0	54,0	29°, 56	30°, 24	+ 0,68
Brunnenwasser	150,0	90,0	27°, 6	26°, 88	— 0,72
	150,0	90,0	27°, 6	26°, 88	— 0,72
	116,0	124,0	28°, 96	26°, 76	— 2,2
	376,0	230,0	69°, 8	66°, 08	— 3,72
	68,0	7,9	7°, 9	8°, 96	+ 1,06
Quellwasser	80,0	21,6	11°, 0	10°, 08	— 0,92
	116,0	30,24	15°, 83	14°, 0	— 1,83
	60,0	17,28	8°, 4	6°, 72	— 1,68
	70,0	13,7	8°, 92	7°, 84	— 1,08
	118,0	20,88	14°, 7	14°, 0	— 0,7
Flufswasser	212,0	43,2	27°, 2	28°, 0	+ 0,8
	120,0	44,6	18°, 25	19°, 6	+ 1,35
	130,0	40,3	18°, 64	17°, 92	— 0,72
	110,0	33,8	15°, 73	16°, 24	+ 0,51

Teilen $^{n}/_{10}$ Ätznatron und Soda bestehende Alkaligemisch wurde folgendermafsen zubereitet: in 1 l Wasser werden 2 g chemisch reinen, mit Alhohol gereinigten Ätznatrons und 2,8 wasserfreier Soda gelöst, darauf die Titerstellung der Lösung nach $^{n}/_{10}$ Salzsäure unter Zusatz von Methylorange derart berechnet, dafs 1 ccm Alkali 1 ccm Säure neutralisiert.

Die Härtebestimmung selbst wird folgendermafsen ausgeführt: 100 ccm des zu untersuchenden Wassers werden mit 2—3 Tropfen Methylorange in der Kälte mit $^{n}/_{10}$ Salzsäure titriert bis zur Rötung. Die Zahl der zur Neutralisation des Wassers verbrauchten Kubikzentimeter Salzsäure ist die Zahl *A*. Das neutralisierte Wasser wird bis zum Kochen erwärmt, um die Erdalkalimetalle vollkommen auszufällen, darauf wird ein Überschufs des $^{n}/_{10}$ Alkaligemisches zugesetzt und die Flüssigkeit wiederum 5 Minuten gekocht.

Die Flüssigkeit wird zusammen mit dem Niederschlag in einen graduierten Zylinder mit eingeschliffenem Glasstöpsel übergeführt; der Kolben, in dem sie gekocht wurde, wird sorgfältig mit kleinen Portionen destillierten Wassers ausgespült; nachdem die Flüssigkeit bis zur Zimmertemperatur abgekühlt, wird sie mit destilliertem Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, sorgfältig durchgeschüttelt und filtriert.

100 ccm des Filtrates werden mit $^{n}/_{10}$ HCl titriert bis zur Rotfärbung: die Zahl der Kubikzentimeter Säure, die zur Neutralisation des Filtrates verbraucht wurden, multipliziert mit 2 und subtrahiert von der Gesamtmenge $^{n}/_{10}$ Alkali, stellt die Zahl *B* dar, welche, multipliziert mit 2,8 die Ziffer der Gesamthärte ergibt.

Darauf werden 100 ccm des zu untersuchenden rohen Wassers $^{1}/_{2}$ Stunde gekocht, um die Bikarbonate zu zersetzen, wobei der Überschufs des verdampften Wassers mit destilliertem bis zum Anfangsvolumen aufgefüllt wird. Das Filtrat wird nach Zusatz von 2—3 Tropfen Methylorange mit $^{n}/_{10}$ HCl titriert: die Zahl Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$ HCl (Zahl *C*), subtrahiert von der Zahl *A* und multipliziert mit 2,8, stellt die transitorische Härte dar. $(A - C) \times 2{,}8 =$ transitorische Härte.

Bei der direkten Bestimmung der transitorischen Härte werden 100 ccm des zu untersuchenden Wassers $^{1}/_{2}$ Stunde gekocht, der mit durchgekochtem, destilliertem Wasser ausgewaschene Niederschlag wird zusammen mit dem Filter in den Kolben übergeführt, in welchem gekocht wurde, $^{n}/_{10}$ Salzsäure zugesetzt, deren Überschufs mit dem $^{n}/_{10}$ Alkaligemisch abtitriert wird: der

Unterschied zwischen der Menge der zugesetzten Säure und der beim Rücktitrieren des Alkali verbrauchten, multipliziert mit 2,8, stellt die Ziffer der transitorischen Härte dar.

Die Warthasche Methode mit der oben beschriebenen Verbesserung ist zweifellos genau, erfordert wenig Zeit und ist leicht ausführbar, und deshalb verdient sie es durchaus, das Bürgerrecht in der hygienischen und techno-chemischen Praxis zu erhalten.

Untersuchungen über das Verhalten niederer Krustazeen gegenüber Bakterien im Wasser.

Von

Dr. Clemens Hörhammer
aus München.

Mit Tafel I.

Aus dem Hygienischen Institut München, Laboratorium von Prof. Emmerich.

Die bakterielle Reinheit der Gewässer hat für die Hygiene eine so grofse Bedeutung, dafs es berechtigt erscheint, sämtlichen Faktoren, die nur irgendwie einen ständigen Anteil an der Verringerung des Keimgehaltes im Wasser haben, die gebührende Würdigung zu teil werden zu lassen. Man hat die wichtigen bakterientötenden Eigenschaften des Wassers, die in seiner chemischen und physikalischen Beschaffenheit liegen, zahlreichen, eingehenden Studien unterzogen, bis Emmerich die wichtige Tatsache der Keimvernichtung durch die Flagellaten klarlegte und so auch das biologische Moment berücksichtigte. Da aber nach der Ansicht verschiedener Forscher bei der Bakterienvernichtung in freien Gewässern auch noch andere Faktoren mitwirken müssen, so stellte ich Untersuchungen darüber an, inwieweit Krustazeen hierin eine Rolle spielen.

Es haben wohl einige wenige Autoren die Vermutung ausgesprochen, dafs die Krustazeen Bakterien als Nahrung aufnehmen, ohne aber irgendwelche genauere Versuche in dieser Richung zu machen. Namentlich war es Schönwerth, dem das gleichzeitige Zunehmen von Krustazeen bei Abnahme von Bakterien als besonders auffällig erschien bei seinen Untersuchungen über

die Ausbreitung der Hühnercholera durch Brunnenwasser. Er infizierte einen Brunnen mit Hühnercholerabakterien und kontrollierte täglich die Zahl der Keime im Brunnen. Er schreibt dann: »Das auffallendste war nun, dafs vom 15. Juni an (bis zu diesem Tag bemerkte Schönwerth eine entschiedene Zunahme des Keimgehaltes des Brunnens) sich Wasserkrebse, Wasserflöhe etc. und mir unbekannte Protozoen zu entwickeln begannen. Genau mit dieser starken Entwicklung der Krustazeen fällt die starke Verminderung des Bazillengehaltes zusammen. Am 15. VI. fand er nur 2 Zyklopiden pro Liter, am 23. VI. aber 146 Zyklopiden.) Dieses Zusammentreffen kann kein zufälliges sein. Entweder verzehren die Zyklopiden die Bazillen oder sie nehmen die Nährstoffe im Wasser an sich und bedingen so indirekt die Abnahme der Bakterien. Absolut einwandfreie Beweise aber konnte Schönwerth für seine Vermutung nicht beibringen. So blieb es auch bei dieser Vermutung, denn es liegen weder von zoologischer noch von bakteriologischer Seite aus eingehendere Untersuchungen darüber vor.

Wenn man der Bearbeitung dieser Aufgabe näher tritt, so hat man in erster Linie danach zu fragen, welche Krustazeen in Betracht kommen. Selbst wenn man nur auf die häufigsten Vertreter der niederen Krustazeen, der Entomostraken, berücksichtigt, so ist bei dem grofsen Artenreichtum die Auswahl nicht ganz leicht. Ich beschränkte mich auf drei Arten: von den Kopepoden wählte ich den Cyclops strenuus, der zu den häufigsten und weitverbreitetsten Vertretern gehört und dadurch interessant und wichtig ist, dafs er selbst im Winter unter der Eisdecke noch zur Fortpflanzung schreitet, von den Harpaktiden, den Canthocamptus minutus und von den Ostrakoden Cypris fasciata. Damit soll aber nur eine Perspektive auf die Ernährungsweise der übrigen niederen Krustazeen eröffnet werden.

Die Beschaffung des Materials ist höchst einfach. Wenn man mit einem feinen Gazenetz an den Rändern eines Baches oder Weihers zwischen faulenden Blättern und Algen hindurchfährt, so wird man nach ein paar Zügen eine genügend grofse Anzahl von kleinen Krustern erbeutet haben, freilich je nach

Jahreszeit verschiedene Arten. Die gewonnene Ausbeute setzt man in Aquarien oder gröfseren Flaschen aus, wo sie sich bei Zusatz von etwas Algen und Schlamm monatelang halten lassen. Zum Herausfangen einzelner Exemplare aus diesen Behältern bedient man sich am besten der Pipette. Mein Material von Cyclops strennus stammte aus dem Brunnen des hiesigen Hygienischen Institutes, die übrigen Arten von Weihern und Bächen.

Schon der ungeheure Artenreichtum und die unbeschränkte Verbreitung der Krustazeen — Forel fand selbst in der gröfsten Tiefe des Genfersees noch 16 Arten —, dann das oft massenhafte Auftreten — man denke nur an die sogenannte Rotäsung des Meeres, an die häufig namentlich im Frühjahr auftretende starke Trübung von Weihern und Seen lediglich durch kleinste Kruster —, schon diese Umstände lassen vermuten, dafs die Entomostraken im Haushalte der Natur von grofser Bedeutung sein müssen, und zwar nicht nur passiv als bekannte Nahrungsquelle für Fische, sondern auch aktiv durch ihre Ernährung als Vertilger von Bakterien.

Nach den meisten Zoologen sind die Krustazeen Allerleifresser, hauptsächlich sollen sie Urtiere und Algen verzehren. Nach Vosseler sei es oft schwer zu entscheiden, ob die Kopepoden in der Tat Allesfresser sind oder nicht, ob der eine oder andere Bestandteil blofs zufällig in den Darm gelange. Ob auch Bakterien aufgenommen werden und in welcher Art, darüber findet man kaum autentische Untersuchungen. Um Klarheit darüber zu bekommen, ob die Krustazeen Bakterien überhaupt in nennenswerter Weise aufnehmen, versetzte ich eine Anzahl Zyklopiden, die ich zwei Tage hungern liefs, in einen Erlenmeyerschen Kolben, der bis über die Hälfte mit frischem unsterilisiertem Leitungswasser angefüllt wurde. Dazu setzte ich lebende Typhusbazillen, welche ich, um den Effekt leichter sichtbar zu machen, mit Methylenblau färbte, nach folgender Methode. Eine eintägige Typhus Agarkultur wurde mit physiologischer ClNa-Lösung zu einer feinen Emulsion verrieben und dann mit wässriger Metylenblaulösung mehrere Minuten gefärbt und

in dieser Farblösung gleich zentrifugiert. Nach Bildung eines deutlichen Bodensatzes wurde die darüber stehende Flüssigkeit so lange erneuert, bis der Bodensatz allein gefärbt blieb, d. h. keinen Farbstoff an die darüber befindliche Lösung abgab, um eventuelle Vitalfärbung der Krustazeen zu vermeiden. Von den zentrifugierten und dadurch konglomerierten Typhusbazillen wurden mittels dünn ausgezogener Pipette Klümpchen dem Wasser zugesetzt. Der Erfolg war überraschend. Schon nach kurzer Zeit sah man bald den einen, bald den anderen Kruster auf die blauen Bakterienklümpchen herbeirudern, um unter zierlichen, zappelnden Bewegungen der Extremitäten die dargebotene Nahrung einzunehmen. Wenn sie ein Weilchen an der Mahlzeit teilgenommen hatten, eilten sie unter raschen Sprüngen wieder davon, um aber bald wieder zurückzukehren, bis sich ihr ganzer Verdauungstraktus mit Bakterien gefüllt hatte. Bei der guten Durchsichtigkeit der meisten Exemplare sieht man oft nach etwa einer Stunde schon vom Munde bis zum Enddarm einen scharf abgegrenzten, dichten, vorne etwas geknickten blauen Strang durch den Körper des Tierchens durchschimmern, der nur von den aufgenommenen Typhusbazillen herrühren konnte und nicht etwa von ausgelaugtem Farbstoff, der blofs das Darmlumen gefärbt hätte. Das kann man leicht dadurch beweisen, dafs die Gröfse der Bakterienklümpchen makroskopisch zusehends abnimmt und ferner dadurch, dafs es beim Zerquetschen von vollgefressenen Krustern oft gelingt, in dem Detritus noch Typhusbazillen mikroskopisch nachzuweisen. Aufserdem wäre es merkwürdig, wenn sich blofs das Darmlumen scharf färben sollte und äufsere Teile, wie Antennen und Borsten, nicht, die doch leichter mit dem Farbstoff in Berührung kommen. Wenn die Kruster sich satt gefressen haben, dann kommen sie immer seltner an die Futterstelle; nach vollendeter Verdauung beginnt jedoch wieder dieselbe Tätigkeit. Wenn die Methylenblaufärbung der Typhusbazillen zu intensiv ausgefallen ist, dann gehen oft am 3. und 4. Tag einige Kruster wahrscheinlich an Metylenblauvergiftung zugrunde. Statt Metylenblaufärbung kann man aber auch Neutralrot nehmen, obwohl mit Blau die Unterschiede kräftiger erscheinen.

Nach diesem ersten, im allgemeinen orientierenden Versuche, den ich immer mit demselben Erfolg wiederholte, prüfte ich, ob inbezug auf Bakterienspezies elektive Unterschiede bestehen, ferner ob sich verschiedene Arten von Krustazeen inbezug auf die Vertilgung von Bakterien gleich verhalten, schliefslich ob die Krustazeen durch die Nahrung direkt angelockt werden und wie grofs ihre Vertilgungstätigkeit zu bewerten ist.

Bei der Auswahl der verschiedenen Bakterienarten hielt ich mich speziell an solche, die im Wasser grofse Bedeutung erlangen können, namentlich Typhus- und Cholerabazillen, ferner einige Wasserbakterien, die sämtliche auf Agar kultiviert wurden. Um die verschiedenen Bakterienarten kenntlich zu machen, färbte ich die einen rot mit Neutralrot, die anderen blau mit Metylenblau und setzte sie zu gleicher Zeit in einen Kolben. Aber ich konnte zu keinem sicheren Schlufs kommen; wohl hatte es einige Male den Anschein, als ob frisch aus dem Wasser gezüchteter Bacillus fluorescens liquefaciens nicht so gern gefressen würde. Im allgemeinen scheint die Art des Bazillus keine besondere Rolle zu spielen.

Gröfsere Unterschiede ergeben sich jedoch inbezug auf die Art der Krustazeen. Es sind offenbar nicht alle Entomostraken gleich grofse Bakterienfresser. Ich habe zu wiederholten Malen Ostrakoden mit ausgiebigen Mengen gefärbter Typhusbazillen mehrere Tage zusammengebracht, aber nur im vereinzelten Exemplaren sah man blauen, oft nur ganz spärlichen Inhalt, wenn man die zwischen die Schalen hineingeratenen Partikelchen ausschaltete. Ebensowenig scheinen die Harpaktiden Hervorragendes zu leisten; man sieht sie zwar häufiger auf der Nahrung sitzen, aber solche auffällige Frefstätigkeit wie die Zyklopiden entwickeln sie nicht, sie scheinen mehr wie die Ostracoden vegetarisch von Algentrümmern zu leben. Aus diesem Grunde verwendete ich für spätere Untersuchungen nur mehr Zyklopiden.

Da der Geschmacks- und Geruchssinn bei den Zyklopiden gut entwickelt sein soll und Leydig diese Funktion den sogenannten blassen Kolben und Zylindern an den Antennen zu-

schreibt, so prüfte ich, ob die Krustazeen durch Einbringung von Nahrung direkt angelockt werden. Zu diesem Zwecke verband ich zwei Kolben H-förmig in der Mitte mit einer Röhre, so dafs die Flüssigkeit beider Kolben kommunizierte; in den einen Kolben setzte ich einige Kruster, in den anderen Bakterienklümpchen; genau ebenso wurde eine Kontrolle ohne Nahrung hergestellt. Die Überwanderung der Zyklopiden in den Kolben mit Nahrung erfolgte fast stets rascher und in gröfserer Zahl als bei der Kontrolle; bei der Lebhaftigkeit und Geselligkeit der Zyklopiden ist es nicht verwunderlich, wenn sie auch vom Nahrungsbehälter heraus wieder in das andere Kölbchen zurückrudern. Aber immerhin scheint eine gewisse Fernwirkung und Anziehung durch Nahrung nicht unwahrscheinlich.

Durch diese Untersuchungen war der Beweis erbracht, dafs wenigstens Zyklopiden in grofsem Mafsstabe Bakterien fressen; allein man kann bei allen diesen Versuchen den Einwand erheben, dafs die Bakterien vital gefärbt waren. Durch diese Färbeprozedur wird sicherlich ein grofser Teil von den Bazillen getötet, ein anderer stark geschwächt und durch den Methylenblaufarbstoff der Geschmack verändert, so dafs man leicht annehmen könnte, die Zyklopiden würden blofs tote oder geschwächte Bakterien verzehren. Einfach zentrifugierte lebende Typhus- oder Cholerabazillen zuzusetzen, hat wenig Sinn, da diese durch ihre Eigenbewegung sich sehr rasch zerstreuen, anderseits der Effekt betreffs Aufnahme ungefärbter Bazillen im Darm der Zyklopiden nicht sichtbar ist. Daher stellte ich folgenden einfachen Versuch an, durch den entschieden werden sollte, ob ungefärbte, lebende und einzeln im Wasser verteilte Bazillen verzehrt würden. In einem Kolben wurden 30 Zyklopiden zu 200 ccm unsterilisiertem Leitungswasser gesetzt und dazu fünf Ösen einer 24 stündigen Typhusagarkulturaufschwemmung gegeben. Daneben unter gleichen Bedingungen eine Kontrolle ohne Krustazeen. Unmittelbar nach Anlegung des Versuches wurden zur Feststellung der eingeimpften Keimzahl Platten gegossen und dann täglich kontrolliert.

Datum	Nr. I: Kolben mit 30 Stück Zyklopiden. Zahl der Typhusbazillen pro 1 Öse	Nr. II: Kolben mit 30 Stück Harpaktiden. Zahl der Typhuskeime pro 1 Öse	Nr. III: Kontrolle. Zahl der Typhuskeime pro 1 Öse
7. Januar	30 240	23 000	25 000
8. »	32 940	20 000	24 300
9. »	21 600	14 229	17 100
10. »	16 020	14 000	8 640

Aus dieser geringen Abnahme der Keime innerhalb vier Tagen geht hervor, daſs an dieser minimalen Verringerung der Typhuskeime die Krustazeen wohl kaum einen Anteil haben, wenn man die Bedingungen berücksichtigt, daſs unsterilisiertes Leitungswasser mit etwa 3—10 Keimen pro ccm nebst einigen Flagellaten verwendet wurde. Auffälligerweise ist sogar in der Kontrolle ohne Kruster die Abnahme nach vier Tagen fast um das Doppelte gröſser. Also ein negatives Resultat. Um ein präziseres Ergebnis wegen der vielen sich schnell vermehrenden Wasserbakterien, die die Gelatine rasch verflüssigen, zu gewinnen, versuchte ich das Experiment unter sterilen Bedingungen auszuführen. Allein es ist fast unmöglich, die Krustazeen trotz dreitägiger Waschung in verschiedenen keimfreien Wassern vollständig steril zu bekommen. Nach einigen Tagen bemerkt man auf den angelegten Platten immer wieder vereinzelte Wasserbakterien, die dann sich sehr bald so vermehren, daſs eine genaue Zählung von Typhuskeimen, unter den verflüssigenden Wasserbakterien oft unmöglich ist. Man darf daher nur die Zählungen der ersten drei bis vier Tage verwerten, in denen meistens noch gar keine fremden Keime auftreten. In diesem steril angelegten Versuch zeigten sich auch in den ersten vier Tagen keine Wasserbakterien. Das Ergebnis war ebenso negativ als oben: Keine auffällige Abnahme der Typhuskeime, so daſs man mit voller Berechtigung sagen kann: Zyklopiden ernähren sich nicht von einzelnen frei umherschwärmenden Bazillen.

Dieses negative Resultat glaubte ich anfangs hauptsächlich dadurch erklären zu müssen, daſs diese Bazillen lebend und nicht

gefärbt, also ungeschädigt waren. Um einwandfreier gefärbte Typhusbazillen zu bekommen, gab ich zu gewöhnlicher Nährgelatine eine wässrige Methylenblaulösung, liefs sie zur Platte erstarren, und impfte darauf ganz oberflächlich in kleineren und gröfseren Kreisflächen die Typhusbazillen. Durch die fortwährende Reoxydation an der Oberfläche gelingt es den Typhuskeimen nicht, Methylenblau zu reduzieren, und sie werden von dem umgebenden Farbstoff während ihres Wachstums ziemlich stark gefärbt. Dafs diese Typhuskeime gut lebend sind, erwiesen angelegte Kulturen davon. In der Regel liefs ich solche Kolonien, die allerdings langsamer gedeihen, einige Tage wachsen, bis sie eine Fläche von 3—5 mm Durchmesser erreicht hatten, und schnitt sie dann samt möglichst wenig Gelatine heraus und setzte davon eine solche an der Gelatine festhaftende Kolonie zu 35 Zyklopiden in 300 ccm Wasser. Der Erfolg war wieder ausgezeichnet. Nach einer halben Stunde sah man schon wieder Zyklopiden mit blauem Darminhalt, und nach ein paar Tagen war die ganze Kolonie radikal abgefressen. Zu bemerken ist, dafs im Kontrollversuch die Kolonie unverändert und gut blau gefärbt blieb, während die Gelatine durch Diffusion den Farbstoff bald abgibt. Daraufhin versuchte ich es auf die gleiche Art mit ungefärbten zwei Tage alten Typhuskolonien, die ich ebenso mit der Gelatine zusetzte, und hatte den gleich guten Erfolg. In kurzer Zeit werden die Kolonien abgeweidet, bis fast nichts mehr zu sehen ist, während in der Kontrolle die Kolonien wochenlang auf ihrer Gelatine haften bleiben, bei Temperaturen bis 15° Celsius.

Es kommt also bei der Vertilgung der Keime nicht auf lebende oder geschädigte Bakterien an, sondern darauf, dafs die Keime in einer gewissen konglomerierten Anhäufung vorkommen müssen. Die Gröfse solcher Anhäufungen braucht noch nicht einmal an der Grenze der Sichtbarkeit zu liegen. Mit besonderer Vorliebe weiden die Zyklopiden die Bakterien von ihrer Unterlage ab, aber sie fressen auch umherliegende oder frei schwimmende Bakterien k l ü m p c h e n auf.

Durch diese Methode des Einbringens der festgewachsenen Kolonien samt etwas Nährmaterial war es möglich, die Vertilgungstätigkeit der Krustazeen annähernd zahlenmäfsig festzustellen. In einen Kolben mit 300 ccm gut mit Luft durchschüttelten, sterilen Wassers kommen 40 Zyklopiden, die drei Tage lang mehrere Male in verschiedenen sterilen Wässern gereinigt wurden. Dazu wird eine zwei Tage alte auf Gelatine oberflächlich gewachsene Typhuskolonie von etwa 3 mm Durchmesser mit möglichst wenig Gelatine gesetzt; in der Kontrolle eine möglichst gleich grofse Kolonie, was natürlich genau zu erreichen, ausgeschlossen ist; sie war vielleicht etwas kleiner, also zu ungunsten der Krustazeen. Nach Einbringung der Typhusbazillen wird sofort eine Platte angelegt, um die Zahl der dadurch abgeschwemmten Keime zu ermitteln. Am zweiten Tage werden die auf der Gelatine eingebrachten Typhuskolonien vorsichtig mit löffelartigen Drahtnetzen aus den Kolben herausgenommen und in 10 ccm Gelatine bei 35° verflüssigt, um die Kolonien von ihren Gelatinebröckelchen zu befreien. Durch Verreiben und festes Umschütteln werden die Bazillen möglichst gleichmäfsig suspendiert und davon Platten mit entsprechenden Verdünnungen gegossen; aufserdem müssen aber auch die Zahlen der frei schwimmenden Bazillen im Kolben berücksichtigt werden. Ich lasse hier das Protokoll eines Versuches folgen:

Datum:	3. Februar	4. Februar	
	Keimzahl im Wasser 10 Minuten nach Zusatz der Typhuskolonie in 5 Ösen = 0,4 ccm	Keimzahl der frei schwimmenden Bazillen unmittelbar vor Herausnahme der Kolonien in 5 Ösen = 0,4 ccm	Verflüssigung der Kolonien auf den Gelatinebröckelchen in 10 ccm Gelatine, daraus 2 Ösen (= 0,16 ccm)
Kolben mit Zyklopyden	14 494	26 100	6 030
Kontrollversuch	1 547	11 124	98 714

Aus diesem Versuch ist zu sehen, einmal dafs nach einem Tag schon über das 15 fache von der Kolonie abgefressen wurde, aufserdem aber noch, dafs durch die Krustazeen um das Doppelte mehr Keime ins Wasser zerstreut wurden als in der Kontrolle,

wo bloſs spontanes Loslösen von der Kolonie erfolgte. Lediglich um nur einen annähernden zahlenmäſsigen Begriff von der Freſsleistung der Zyklopiden zu bekommen, sei hier angeführt, daſs sich aus dem vorstehenden Versuch pro ein Stück Cyclops rund 700000 Typhuskeime berechnen, verzehrt innerhalb eines Tages. Solche Versuche stellte ich noch öfter an, wobei ich die Kolonien oft 3—4 Tage im Kolben lieſs. Auch hier war oft in kurzer Zeit das 10—100 fache von den Kolonien abgefressen und teils auch abgespült durch die strudelnde Extremitätenbewegung beim Fressen. Diese Eigenschaft der Abspülung der Keime von ihrer Unterlage hat sicher eine wichtige praktische Bedeutung. Einerseits werden Bakterien aus Partikelchen in Freiheit gesetzt und können so leichter den Flagellaten anheimfallen, anderseits aber werden sie rascher im Medium verbreitet.

Alle diese Versuche sind mit dem Vorbehalte aufzunehmen, daſs den Krustazeen keine andere Nahrung während des Versuches zur Verfügung stand; in freier Natur würden diese Ergebnisse etwas geringer ausfallen bei der unendlichen Fülle an verschiedenem Nährmaterial. Um einen gewissen Einblick in die Tätigkeit der Krustazeen unter natürlichen Verhältnissen zu gewinnen, versetzte ich viele Zyclopiden in einen gröſseren Glasbehälter mit Teichschlamm und Algen und anderen organischen Trümmern, so daſs sie variable Nahrung in Fülle hatten. Nach einigen Tagen lieſs ich wieder methylenblaugefärbte Bakterienklümpchen auf den Boden sinken, und wirklich konnte man wieder nach einiger Zeit eine Anzahl von Krustazeen mit blaugefärbtem Darminhalt sehen, als Beweis, daſs auch in Freiheit Bakterien von ihnen stets verzehrt werden. Man wird leicht die Beobachtung machen können, daſs die Zyklopiden an Algen- und Pflanzenstengeln oder am Boden emsig auf und ab suchen, um davon die anhaftenden Bakterien und Protozoen abzuweiden.

Wenn wir noch einmal kurz die Resultate über die Ernährungstätigkeit der Krustazeen zusammenfassen, so ergibt sich:

Nicht sämtliche niederen Krustazeenarten sind Bakterienfresser. Keine Art ernährt sich exklusiv von Spaltspitzen; die Zyklopiden nehmen einen groſsen Teil ihrer Nahrung in Bak-

terien auf, die sie von Pflanzenteilen Bodenpartikelchen etc. abweiden.

Die Zyklopiden fressen keine einzelnen, frei suspendierten Bakterien, sondern nur Bakterienanhäufungen.

Durch die Massenaufnahme von Keimen spielen die Zyklopiden eine nicht zu unterschätzende Rolle für die Reinheit der Gewässer, während die übrigen Krustaezen, welche hauptsächlich Algentrümmer verzehren, durch die Beseitigung organischer Stoffe als Nahrungsquellen für Spaltpilze indirekt ebenfalls eine gewisse Bedeutung haben.

Durch die Krustazeen können bei deren Nahrungsaufnahme leicht zahlreiche Keime aus zusammenhaltenden Teilchen befreit oder von ihrem Substrat losgerissen werden. Damit kann entweder eine rasche Allgemeinverbreitung der Keime erfolgen oder die frei gemachten Bakterien fallen leichter den Flagellaten anheim.

An dieser Stelle sei mir noch gestattet, dafs ich Herrn Prof. Emmerich meinen besten Dank ausspreche für die Anregung und Unterstützung bei dieser Arbeit, ebenso Herrn von Douve für die genaue Bestimmung der Krustazeen.

Literaturangaben.

Tier- und Pflanzenwelt des Süfswassers von Dr. Otto Zacharias. I. Bd. 1891.

Brauer, Süfswasserfauna.

Schönwerth Arnulf, Möglichkeit einer von Brunnenwasser ausgehenden Hühnercholera-Epizootie. Archiv f. Hyg., Bd. 15, 1892.

Emmerich Rudolf, Über die Beurteilung des Wassers vom bakteriolog. Standpunkte. Zeitschrift f. Untersuchungen der Nahrungs- u. Genufsmittel 1904, Bd. 8.

Hoffmann, Über die Lebensdauer der Typhusbazillen im Wasser. Archiv f. Hygiene, Bd. 52, Seite 208.

Fehrs, Flagellaten und Typhus. Hygienische Rundschau, Bd. XVI, Nr. 3, S. 113.

Huntemüller, Vernichtung von Bakterien im Wasser durch Protozoen. Archiv f. Hygiene, Bd. 54, S. 89.

Korschun, Zur Frage der Verbreitung des Abdominaltyphus durch Trinkwasser. Archiv f. Hygiene, Bd. 61, S. 336.

E. Schepilewsky, Über den Prozefs der Selbstreinigung der natürlichen Wasser nach ihrer künstlichen Infizierung durch Bakterien. Archiv f. Hygiene, Bd. 72, Heft I, 1910.

Über die entwicklungshemmende Wirkung einiger organischer Stoffe in Lösung und in Dampfform.

Von

Hermann Stadler,
ehemaligem Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Direktor: Professor Dr. W. Silberschmidt.)

Über das bakterizide Vermögen organischer Antiseptika haben wir sehr eingehende empirische und theoretische Kenntnisse, hingegen sind wir über die schwächeren Grade ihrer antibakteriellen Wirkung noch wenig orientiert. Ich habe in dieser Arbeit die unter dem Einfluſs flüchtiger organischer Verbindungen auftretende Wachstumsbehinderung von Bakterien studiert und versucht, einige Beziehungen zwischen der entwicklungshemmenden Wirkung dieser Körper und ihrem chemischen Aufbau und physikalischen Zustand aufzudecken. Der Einfluſs dieser zwei Faktoren auf die Desinfektionswirkung ist bereits von verschiedenen Autoren nachgewiesen worden: Bechhold und Ehrlich (5), Krönig und Paul (15), Laubenheimer (16), v. Lingelsheim (17) u. a.; über die Beziehungen zwischen entwicklungshemmender Wirkung und chemischer Konstitution liegen dagegen nur spärliche Angaben vor, und der Einfluſs des physikalischen Zustandes des wirksamen Stoffes (Lösung, Dampfform) ist noch nicht klargelegt worden.

Der Begriff der Entwicklungshemmung wird in der Literatur nicht eindeutig gebraucht. Rob. Koch (14) bezeichnete mit Entwicklungshemmung die totale Wachstumsunterdrückung; die geringeren Grade nannte er Wachstumsbehinderung. Schneider und Seligmann (24) fassten jede sichtbare ungünstige Wachstumsbeeinflussung unter den Begriff der Entwicklungshemmung. Einzelne Autoren bezeichneten damit gar Desinfektions- oder Intoxikationseffekte, wie z. B. Aufhören oder Verlangsamung von Wachstum nach Vorbehandlung mit bakteriziden Stoffen. Desinfektion und Entwicklungshemmung sind theoretisch und praktisch streng zu unterscheiden. Letztere ist nicht als der Initialeffekt einer bakteriziden Zellaffektion im Sinne Wirgins (27), sondern als eine unabhängige Parallelerscheinung aufzufassen. Dafür sprechen folgende Tatsachen: Entwicklungshemmung kann durch physikalische Einflüsse (Temperaturerniedrigung, Austrocknung) wie durch gewisse chemische Agentien (Äther, Alkohol, Thymol u. a.) lange Zeit ohne Schädigung der Zelle unterhalten werden. Sie stellt also einen stationären, reversiblen Zustand dar im Gegensatz zu der progressiven, irreversiblen Zustandsänderung bei der desinfektorischen Einwirkung. Sodann ist das Verhältnis zwischen den Hemmungskonzentrationen und den auf gleiche Wirkungszeiten bezogenen Abtötungskonzentrationen bei verschiedenen Antiseptika sehr ungleich, was auf die Unabhängigkeit der entwicklungshemmenden und der bakteriziden Einwirkung hinweist.

Die verschiedenen Grade der Entwicklungshemmung bezeichne ich als Initial- (Andeutung), Partial- (mäfsiger Grad) und Totalhemmung und benenne in gleicher Weise in folgendem die zugehörigen Konzentrationen (I. H. C. —, P. H. C. —, T. H. C.). In der Art der Wachstumsbeeinflussung zeigen sich bei verschiedenen Stoffen grofse Unterschiede. Bei den einen wachsen von Anfang an mit steigender Konzentration die zugehörigen Wachstumszeiten in mehr oder weniger rasch ansteigender Kurve, bei andern hingegen geht der Wachstumsverlangsamung eine Phase der Wachstumsbeschleunigung voraus. Das letztere habe ich bei reizenden Stoffen, wie Allylverbindungen

beobachtet, sodann bei Aldehyden, Azetal u. a. Es ist diese der Lähmung einer Funktion vorausgehende Reizung eine in der Pharmakologie und Biologie oft beobachtete Erscheinung. Aufser der Konzentration des wirkenden Stoffes spielen bei der Entwicklungshemmung noch weitere Faktoren eine Rolle: Temperatur, Nährsubstrat, Keimzahl, Resistenz. Die Temperatur macht sich nach verschiedenen Autoren in der Weise geltend, dafs im Temperaturoptimum, wo die Wachstumsenergie am gröfsten ist, hemmende Einflüsse den geringsten Effekt hervorbringen, während sie nach oben und unten an Wirksamkeit zunehmen. Der Nährboden kann den Grad der Hemmung in doppelter Weise verändern. Einmal beeinflufst er durch seine Zusammensetzung die Intensität des Wachstums, sodann kann er durch Bindung der hemmenden Substanz deren Wirkung auf die Bakterien abschwächen (Serum — Hg - Salze). Veränderungen der Zahl der geimpften Keime bedingen gleichsinnige Verschiebungen der Hemmungskonzentrationen. Endlich braucht kaum erwähnt zu werden, dafs die Resistenz, sowohl die Resistenz der Spezies als auch die wechselnde Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Stämme und Generationen den Hemmungseffekt beeinflussen. Zum Studium der chemischen Entwicklungshemmung müssen deshalb alle diese Faktoren möglichst gleichmäfsig erhalten werden, so dafs die Konzentration des hemmenden Stoffs die einzige Variable in der Versuchsanordnung darstellt. Doch auch in diesem Falle kann der beobachtete Hemmungseffekt noch das Produkt zweier Faktoren: Der Beeinflussung der Bakterien und derjenigen des Nährbodens sein. Die Frage, ob ein Stoff entwicklungshemmend wirkt durch alleinige Affektion der Bakterien oder durch alleinige Alteration des Nährbodens oder durch beide Momente gleichzeitig, läfst sich auf verschiedenem Wege beantworten. Durch nachträgliches Beimpfen eines Nährbodens, der vorher den Dämpfen des betreffenden Stoffs ausgesetzt gewesen, läfst sich eine ev. chemische Alteration desselben nachweisen. Sodann lassen sich auch aus dem Verhältnis der Hemmungskonzentrationen eines Stoffs in Lösung und in Dampfform diesbezügliche Schlüsse ziehen.

Bei allen Entwicklungshemmungsversuchen befinden sich die Bakterien, selbst wenn wir Agar- und Gelatineoberflächenkulturen verwenden, innerhalb einer Flüssigkeitshülle. Dämpfe und Gase wirken deshalb auf solche Bakterien entsprechend ihrer Absorptionskonzentration im umgebenden flüssigen Medium ein. Die letztere ist nach dem Gesetz von Henry bestimmt durch Absorptionskoeffizient und Partialdruck des betreffenden Gases oder Dampfes. Der Partialdruck läſst sich für monomolekulare Dämpfe aus der Dichte unter Benützung der Zustandsgleichung der Gase in folgender Weise berechnen. Die Zustandsgleichung $pv = RT$ hat, auf 1 Mol. eines Stoffs bezogen, die Form $pv = 82\,T$. Setzen wir $p = 1$ (760 mm Hg), so ist also das Dampfvolum eines Mol. eines jeden Stoffs = 82 $\times$ absolute Temperatur, dasjenige von 1 g $V_1 = \frac{82 \cdot T}{m}$. Verdampft man 1 g in 1 l, so ist der dabei entwickelte Dampfdruck $P_1 = \frac{760 \cdot 82 \cdot T}{1000\, m}$, da nach dem Mariotteschen Gesetz $\left(\frac{v_1}{v_2} = \frac{p_2}{p_1}\right)$

$$V_1 : 1000 = P_1 : 760$$

ist. Setzen wir den Druck des gesättigten Dampfes bei T gleich P, das Lösungsverhältnis des Stoffs gleich l (Gehalt einer gesättigten Lösung), so verhält sich nach dem Gesetz von Henry die Absorptionskonzentration A_1 eines solchen Dampfes von P_1 Dampfdruck folgendermaſsen:

$$A_1 : l = P_1 : P. \quad A_1 = \frac{l \cdot P_1}{P} = \frac{l \cdot 62{,}32\ T}{P \cdot m}.$$

Die Absorptionskonzentration eines monomolekularen Dampfes läſst sich also bei Kenntnis von l, P und m für jede Dichte berechnen. Damit haben wir die Möglichkeit, die entwicklungshemmende Wirkung eines Dampfes mit derjenigen einer Lösung in Beziehung zu bringen.

Unterdrückt ein Dampf von der Dichte D eben das Wachstum auf einer beeimpften Agaroberfläche, so wird die dort bestehende (berechenbare) Absorptionskonzentration A der

Hemmungskonzentration in Bouillon C annähernd gleich sein müssen, falls der Stoff mit Bouillon nicht chemisch reagiert.

Die in einem Gel zu der Absorption hinzutretende Adsorption an der festen Phase macht sich in unserem Falle nicht merklich geltend, weil die Bakterien sich zwischen den festen Agarmaschen in der flüssigen Phase, die fast reine Bouillon ist, befinden.

Tritt der hemmende Stoff in chemische Reaktion mit dem Nährboden, so wird das berechnete A nicht mehr gleich dem beobachteten C sein. In Bouillonlösung wird nämlich der hemmende Stoff, bevor er an die Bakterien herantreten kann, mehr oder weniger vollständig chemisch gebunden, während der Dampf durch die dünne Flüssigkeitshülle auf Oberflächenkulturen unmittelbarer einwirkt, daher in relativ geringerer Konzentration schon hemmend wirkt. Für diese Stoffe wird also $A < C$.

Auch die oben abgeleitete Berechnung von A läfst sich nicht für alle Stoffe durchführen. Ausgeschlossen sind erstens polymerisierte Dämpfe, da deren Dampfdruck kleiner als der Dichte entsprechend ist. Sodann ist die Formel nicht anwendbar auf Stoffe mit unbegrenzter Wasserlöslichkeit ($l = \infty$), deren Absorption mit dem Partialdruck nicht parallel geht.

Wir werden später sehen, wie weit diese theoretisch abgeleiteten Gesetzmäfsigkeiten mit den beobachteten Tatsachen übereinstimmen.

Versuchsanordnung.

1. Die Bestimmung der entwicklungshemmenden Wirkung der Dämpfe geschah in folgender Weise: Mit Agar gefüllte, oberflächlich beimpfte Uhrschälchen wurden in hermetisch verschlossenen Patenteinmachgläsern der Einwirkung des betreffenden Dampfes ausgesetzt. Die Uhrschälchen ruhten auf schlittenähnlichen Gestellen aus Drahtnetz in den horizontal liegenden Gläsern, deren Volumen $^3/_4$ l betrug. Die gewünschten Dampfdichten wurden erzielt, indem die entsprechenden Mengen der betreffenden Flüssigkeit in den Gefäfsen zur Verdampfung kamen.

Die Abmessung geschah mit Pipetten, was für flüchtige Flüssigkeiten dem Abwägen vorzuziehen ist; aus dem Volumen wurde das Gewicht entsprechend der Dichte berechnet. Bei Verdampfung gröſserer Mengen flüchtiger Stoffe entstehen im Innern geschlossener Gefäſse sehr beträchtliche Überdrucke, die einen absolut hermetischen Druckverschluſs nötig machen. Auf Glasplatten aufgeschliffene Glasglocken, wie ich sie ursprünglich verwendete, hatten sich als nicht genügend dicht erwiesen, so daſs alle anfänglich gemachten Versuche nicht verwertet werden konnten. Als Nährboden kam zur Verwendung 1½% Fleischwasseragar mit 4% Glyzerinzusatz. Um eindeutige Resultate zu erhalten, wurde eine für eine groſse Zahl von Versuchen ausreichende Menge der Nährböden auf einmal hergestellt. Zu den Versuchen wurden verwendet: Staphylococcus pyogenes aureus, Bacterium coli commune und Bacterium pyocyaneum. Die betreffenden Stämme wiesen üppiges Wachstum und gute Farbstoffbildung auf. Letztere, sowie die Resistenz zeigten allerdings im Laufe der mehrere Monate dauernden Untersuchung eine Abnahme, die in einzelnen Tabellen recht deutlich zum Ausdruck kommt. Es wurde je eine Öse einer dichten (10 Milliarden pro ccm) Aufschwemmung von einer 24stündigen Agarkultur überimpft. Die gewöhnliche Beobachtungszeit betrug 6 Tage für die im Brutschrank gehaltenen Kulturen; nachträgliches Wachstum kommt nach meinen Beobachtungen nicht vor. Die gewachsenen Kolonien waren nach ihrem Aussehen leicht zu identifizieren; Luftinfektion trat übrigens nur selten ein, da die Füllung und Impfung der Uhrschälchen unter Glasglocken vorgenommen wurde. Die Versuchstemperatur betrug 37° C.

2. Für die Versuche mit Lösungen kam folgende Methode zur Anwendung:

Reagenzröhrchen von 12 ccm Inhalt wurden mit 10 ccm Nährflüssigkeit beschickt, dieser die entsprechende Menge des Stoffes zugesetzt, das Röhrchen mit einer Öse einer Aufschwemmung von Bacterium coli commune (10 Milliarden pro ccm) beimpft und mit sterilen Korkstopfen verschlossen. Die Nährflüssigkeit bestand aus Fleischwasserbouillon und 1% Peptonwasser *aa*,

die Reaktion war schwach lackmusalkalisch. Schwer- oder unlösliche Stoffe wurden in Äther, Azeton oder rizinolsaurem Kali gelöst zugesetzt; ein geringer Zusatz dieser lösenden Stoffe, der noch keine stärkere Entwicklungsbehinderung verursacht, vermag die Wasserlöslichkeit mancher Stoffe schon merkbar zu erhöhen. Am häufigsten kam ein Zusatz von 1 % Azeton in Anwendung. Auf eingetretene Vermehrung der geimpften Kolibazillen wurde geschlossen, wenn die Bouillon innert 72 Stunden sich in diffuser, nicht flockiger Weise trübte. Von chemischer Flockenbildung und Trübung kann die bakterielle an der geringeren Neigung zu Sedimentierung und Klärung — sie ist im obern Drittel gewöhnlich am deutlichsten — sowie an der charakteristischen Schlierenbildung beim schwachen Schütteln in den meisten Fällen gut unterschieden werden. Im Zweifelsfalle wurde mikroskopisch im hängenden Tropfen untersucht. Die verwendeten chemischen Stoffe wurden von den Firmen »Kahlbaum« und »Merck« in der Qualität chemisch rein bezogen, das ricinolsaure Kali stellte ich mir durch Verseifen von Ricinolsäure in alkoholischer Kalilauge dar.

Spezielle Versuche.

Chloroform — $CHCl_3$ — m (molek. Gew.) 119 — d (Dichte) 1,5 — l_{37} · (Löslichkeit) 7‰. — Die ersten Mitteilungen über die antibakterielle Wirkung des Chloroforms stammen von Salkowsky (23), später zeigte Kirchner (12), daſs gesättigtes Chloroformwasser nicht sporentragende pathogene Mikroorganismen in kurzer Zeit abtötet. Die Dämpfe von Chloroform wirken nach Buchner & Segall (8) gegenüber 12 von ihnen untersuchten Bakterienarten stark entwicklungshemmend, nach Lossen (19) töten gesättigte wasserhaltige Chloroformdämpfe die vegetativen Formen von pathogenen Mikroorganismen innert 10—30 Minuten ab und vernichten sogar Tetanussporen in 4, Milzbrandsporen in 60 Tagen. Ich gebe meine für die entwicklungshemmende Wirkung des Chloroforms in Lösung und Dampfform gefundenen Werte in folgenden zwei Tabellen wieder.

Zeichenerklärung: In der ersten Vertikalrubrik figurieren die Gewichtskonzentrationen, angegeben durch die Menge des Stoffs (in Gramm), die in 1 l Flüssigkeit gelöst, resp. in 1 l Luft verdampft wurde. Die hinter ihnen stehenden Zahlen (2. Vertikalrubrik) bedeuten die molekularen Konzentrationen d. h. das Volumen in Litern, die ein Mol. bei der betreffenden Konzentration enthalten würden. Das Verhalten der Bakterien wird durch folgende Zeichen ausgedrückt: — kein Wachstum, ⁝ minimales-, | geringes, + mäfsiges, ‡ starkes Wachstum. Die Resultate gleichzeitiger Versuche sind übereinander, diejenigen zeitlich getrennter Versuche hintereinander angeordnet. Unter den Versuchsreihen sind die zur Löslichkeitserhöhung zugesetzten Stoffe mit ihren Anfangsbuchstaben angegeben: Ae = Äthyläther, Ac = Azeton, R.K. = ricinolsaures Kali, — ohne Zusatz eines Lösungsmittels. Es sind in den Tabellen nur die Versuche mit Konzentrationen, die nahe beim Hemmungswert liegen, angeführt.

Chloroform.

Dampf					Lösung		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,6	200	— — —	— — —	— — —	1,8	72	— — — —
0,45	250	+ —	— —	— —	1,5	88	| — — — —
0,37	320	| — +	— — —	— — —	1,2	106	| ‡ — ⁝ —
0,30	400	‡ ‡ ‡ +	— + + +	— | | —	0,95	124	+ ‡ ‡ | +
0,22	530	‡ ‡ ‡	+ ‡ ‡	— | +	0,75	176	‡
0,15	800	‡	‡	‡			
							Ae — Ac

G.C. = Gewichtskonzentration (x Gramm in 1 Liter), M.C. = Molekulare Konzentration (1 Mol in x Liter), ‡ starkes, + mäfsiges, | geringes, ⁝ minimales, — kein Wachstum.

Von den drei untersuchten Bakterien verhält sich Staphylococcus pyog. aur. in bezug auf Wachstumsbeeinflussung durch Chloroform am indifferentesten, an zweite Stelle kommt Bact. coli, während Pyocyaneum am empfindlichsten ist. Die Empfindlichkeit gegenüber Wachstumsbeeinflussung geht also nicht parallel mit derjenigen gegenüber Desinfektionseingriffen. Die obige Reihenfolge zeigt sich auch in den meisten Versuchen mit andern Stoffen Die Differenzen in den Resultaten zeitlich aufeinander

folgender Versuche rühren von Resistenzschwankungen der benutzten Stämme her, möglicherweise liefsen sie sich bei der von Paul (20) angegebenen Methode: Verwendung von angetrockneten, bei der Temperatur der flüssigen Luft aufbewahrten Staphylokokken, vermeiden oder verringern, doch stand mir die nötige Einrichtung nicht zur Verfügung. In bezug auf den Angriffspunkt der Wirkung verhält sich Chloroform rein bakteriotrop, der Nährboden wird von ihm nicht verändert.

Äthyläther $C_2H_5 - O - C_2H_5$ — m 74 — d 0,73 — l_{37° 4,6%. Über antibakterielle Wirkungen des Äthers liegen nur wenige Angaben vor. Rob. Koch (14) sah Abtötung von Milzbrandbazillen nach 15tägiger Einwirkung. Behring (3) bestimmte die Hemmungskonzentration gegenüber Milzbrandbazillen in Blutserum auf mehr als 1%. Rothert (22) zeigte, dafs Äther und Chloroform die Lebensfunktionen niederer Tiere, wie auch von Mikroorganismen ohne Beeinträchtigung der Lebensfähigkeit unterbrechen und bei gewissen Spezies Anästhesie gegen verschiedenste Reize erzeugen. Die entwicklungshemmende Wirkung des Äthers hat sich nach meinen Versuchen als ziemlich gering erwiesen. Bacterium coli hemmt er total in einer Konzentration von 2—3%, während gegenüber Staphylokokken in gesättigter Lösung keine konstante Totalhemmung eintritt. Wie Chloroform läfst Äther den Nährboden unverändert.

Äthyläther.

Dampf					Lösung		
G.C.	M.C	Staph aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
2,3	32	+ +	— —	— —			
1,9	40	+ ‡ —	— — —	— — —	40	1,9	— — — — —
1,5	55	‡ ‡ +	— + —	— — —	30	2,6	— — — — —
1,2	60	‡ ‡ +	‡ + +	— — —	22	3,4	+ + | — —
0,9	90	‡ ‡ +	‡ + +	+ — —	15	5	‡ ‡ + —
0,6	135	‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡	+ + +	7,5	10	‡ +

Azetal $CH_3\,CH\langle{}^{O\,C_2H_5}_{O\,C_2H_5}$ m 118; d 0,8; l_{25° 4,4%. — Untersuchungen dieser ätherähnlichen Verbindung in bezug auf antibakterielle Wirkung sind mir nicht bekannt

Azetal.

Dampf.					Lösung.		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,16	730	—	—	—	8	15	— — — —
0,10	1180	: — — —	— — — —	— — — —	4	30	— — — —
0,06	1950	‡ + — —	‡ ‡ — —	— | — —	2,5	47	+ + + +
0,04	2950	‡ ‡ ‡ +	‡ ‡ ‡ —	+ + — —	1,6	74	+ ‡ +

Die entwicklungshemmende Wirkung des Azetals übertrifft die des ihm chemisch nahestehenden Äthers beträchtlich, was wohl mit der doppelten Karbonyläthylgruppe zusammenhängt. Bei Azetal ist die Erscheinung, dafs schwächere Konzentrationen als die entwicklungshemmenden verstärktes Wachstum hervorrufen, deutlich ausgeprägt. Besonders anschaulich zeigt sie sich bei Einwirkung von Azetaldämpfen auf diffus geimpfte Gradagarröhrchen. Entsprechend der von der Oberfläche nach unten sukzessiv abnehmenden Absorptionskonzentration zeigen sich folgende Wachstumserscheinungen: Zu unterst normales Wachstum, das nach oben allmählich abnimmt, in einer schmalen Zone dann nochmals in verstärktem Mafse sich zeigt, um zu oberst in der klar gebliebenen Agarpartie ganz aufzuhören. Diese Erscheinung wurde schon von Riedlin an diffus geimpften Agarkulturen, die unter Jodoformdämpfen standen, beobachtet, eine Erklärung derselben gab er nicht (21). Den Nährboden verändert Azetal erst in stärkerer Konzentration und verfärbt ihn hierbei bräunlich.

Azeton $CH_3 \cdot CO \cdot CH_3$; m 58; d 0,8; l ∞.

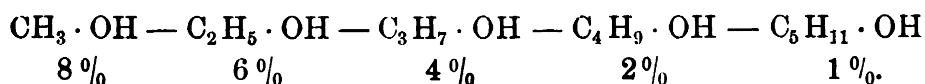
Die entwicklungshemmende Wirkung des Azetons erwies sich sowohl in Lösung wie in Dampfform als gering. Reaktion mit dem Nährboden scheint nicht einzutreten, eine der negativen vorausgehende positive Wachstumsbeeinflussung wie bei Azetal konnte ich nicht nachweisen.

Azeton.

Dampf.					Lösung.		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,54	110	‡ — + — —	— — — — —	— — — — —	72	0,8	— — — —
0,4	145	‡ ‡ ‡ — +	+ — | + +	— — — — —	55	1,0	| + — — —
0,25	230	‡ ‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡ ‡	— + + +	48	1,2	| — —
0,16	460	‡ ‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡ ‡	+ + ‡ ‡	40	1,4	+ + — —
					32	1,9	‡ + +

Alkohole.

Über die antibakteriellen Wirkungen der Alkohole, speziell des Äthylalkohols, liegen eine gröfsere Zahl von Untersuchungen vor. Während nach Rob. Koch (14) die bakterizide Fähigkeit des Äthylalkohols gering ist, — er untersuchte absoluten sowie stark verdünnten Alkohol — ist nach späteren Untersuchern: Reinike, Ahlfeld, Frank (10) seine Desinfektionskraft bei 30—50 % Wassergehalt sehr beträchtlich. Auch Dämpfe von 40 % Alkohol wirken nach Frank stark bakterizid. Als Totalhemmungskonzentrationen werden von den verschiedenen Autoren folgende Werte angegeben: Buchholz (7): 2 % gegenüber Fäulniserregern in Fleischwasser, Rob. Koch (14): 8 % gegenüber Milzbrand in Serum, Wirgin (28): 7 % gegenüber den meisten Bakterien in Bouillon. Letzterer Autor untersuchte auch vergleichend die höheren Alkohole (27), wobei er mit steigendem Molekulargewicht Steigen der antibakteriellen Wirkung beobachtete. Die von ihm an Staphylococcus pyog. aureus in Bouillon gefundenen Hemmungswerte sind in folgendem wiedergegeben:



$CH_3 \cdot OH$ — $C_2H_5 \cdot OH$ — $C_3H_7 \cdot OH$ — $C_4H_9 \cdot OH$ — $C_5H_{11} \cdot OH$
8 % 6 % 4 % 2 % 1 %.

Meine Untersuchungen erstrecken sich auf den Methyl, Äthyl-, Propyl-, *i* Amyl-, sowie den ungesättigten Allylalkohol.

Methylalkohol $CH_3 \cdot OH$; m 32; d 0,8; l ∞.

Dampf					Lösung		
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M. C.	Coli comm.
0,6	54	— —	— —	— —	72	0,45	— — —
0,4	80	+ — —	‡ — —	— — —	64	0,5	: : — —
0,27	117	‡ + |	‡ + |	+ — :	56	0,57	| | + — —
0,20	160	‡ ‡ ‡	‡ ‡ ⧺	‡ + +	48	0,67	+ + ‡ | |
0,12	270	‡ ‡	‡ ‡	+ +	40	0,8	‡ ‡ ‡
					37	0,9	‡
					24	1,3	‡

Äthylalkohol $C_2H_5 \cdot OH$; m 46; d 0,8; l ∞.

		Dampf			Lösung		
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M. C.	Coli comm.
0,62	78	— —	— —	— —	56	0,8	— — — —
0,48	95	— —	— —	— —	40	1,15	— — — —
0,40	115	+ — —	+ — —	— — —	32	1,4	| + + | ⋮
0,28	161	‡ + — + + +	‡ + — — — —	+ — — — — —	24	1,8	‡ ‡ ‡ +
0,20	230	‡ ‡ ‡ ‡	‡ + ‡	‡ — |	16	2,3	‡ ‡

n. Propylalkohol $C_3H_7 \cdot OH$; m 60; d 0,8; l ∞.

		Dampf			Lösung		
G. C.	M. C	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M. C.	Coli comm.
0,3	200	— —	— —	— —	36	1,7	— — — — —
0,15	400	+ — — —	— — — —	— — — —	24	2,5	— ⋮ — — —
0,12	500	‡ — — +	‡ — — +	— — — —	16	3,6	+ + + ⋮
0,08	750	‡ + ⋮	‡ + +	‡ — —	8	7,2	+ +
0,04	1500	‡	‡	‡	4	15	‡

i. Amylalkohol $C_5H_{11} \cdot OH$; m 78; d 0,8; 12,5 %

		Dampf			Lösung		
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G C.	M. C.	Coli comm.
0,10	780	— —	— —	— —	8,5	9,2	— — —
0,065	1250	⋮ — —	— — —	— — —	6,7	13	— — —
0,042	1950	+ + +	— — ⋮	— — |	4,2	18	| + —
0,025	3100	‡ ‡ ‡	+ + ‡	| + ‡	2,5	31	| +
0,017	4700	‡ ‡	‡ ‡	| +	1,7	52	+ ‡

Meine Versuchsresultate bestätigen die Angaben Wirgins völlig, wie folgende Zusammenstellung der von mir gefundenen *T*-Hemmungswerte gegenüber Bact. coli zeigt:

	$CH_3 \cdot OH$	$C_2H_5 \cdot OH$	$C_3H_7 \cdot OH$	$C_5H_{11} \cdot OH$
Lösung	6,5 %	4 %	2,5 %	0,6 %
Dampf	5 ‱	4,5 ‱	1,4 ‱	0,35 ‱

Die Hemmungskonzentrationen der Dämpfe sind unter sich nicht ohne weiteres vergleichbar, da die Absorptionsavidität das Resultat beeinflufst.

Allylalkohol $CH_2:CH \cdot CH_2 \cdot OH$; m 58; d 0,7; l ∞.

Die schon von Rob. Koch (14) beobachtete aufserordentlich starke antibakterielle Wirkung des Allylalkohols, resp. seiner Dämpfe ist nicht eine Wirkung der Alkohol-, sondern der ungesättigten Allylgruppe.

Allylalkohol.

Dampf					Lösung		
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M. C.	Coli comm.
1,0	58	— —	— —	— —	3,0	19	— — — —
0,5	116	—	—	—	1,8	32	⋮ ⋮ | ⋮
0,33	175	—	—	—	0,9	65	⋮ ⋮ + |
0,25	230	—	—	—	0,4	145	+ + + |
0,10	580	— —	— —	— —			
0,05	1160	—	—	—			

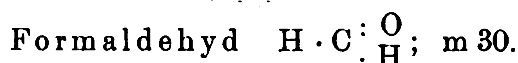
Die T. H. C. der Dämpfe liegt noch unter $^1/_{20000}$. Aus äufseren Gründen kam ich nicht zu ihrer Bestimmung.

Aldehyde.

Von den Aldehyden hat der Formaldehyd ein sehr eingehendes Studium in bezug auf seine antibakterielle Wirkung erfahren, während die höheren Homologa wenig, zum Teil noch gar nicht hierauf untersucht worden sind.

Als erster machte O. Löw (18) auf die stark giftige Wirkung des Formaldehyds niedern Organismen gegenüber aufmerksam. Durch ihn angeregt, untersuchten später Buchner & Segall (8) die Wirkung der Formaldehyddämpfe auf Bakterien. Ihre Angaben, dafs Formaldehyd keine stärkere bakterizide Wirkung ausübe, wurden durch spätere Untersucher: Aronson (1), Lehmann, Trillat (25) u. a. widerlegt; nach den übereinstimmenden Befunden der neueren Autoren wirkt Formaldehyd

in Dampfform und in Lösung stark bakterizid und entwicklungshemmend; so vermag er die meisten pathogenen Bakterien in Gelatine in einer Konzentration von $^1/_{20000}$ völlig zu hemmen. Die Wirkung der Dämpfe von Azetaldehyd wurde von Frank (10) und von Beitzke (6) untersucht. Nach ersterem wirken Dämpfe von Azetaldehyd stärker bakterizid als Formaldehydgas. Beitzke beobachtete partielle Hemmung von Staphylococc. pyog. aur. durch Azetaldehyddämpfe bei 1 : 100 000, Totalhemmung bei 1 : 10 000, Abtötung bei 1 : 1000.



Formaldehyd $H \cdot C \genfrac{}{}{0pt}{}{:O}{\cdot H}$; m 30.

		Dampf				Lösung	
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G. C.	M. C.	Coli comm.
0,0009	33 000	− − −	− − −	− − −	0,14	210	− − −
0,00066	45 000	− + − −	− − − −	− + + −	0,125	240	− − −
0,00044	70 000	‡ ‡ ‡	‡ ‡ +	‡ ‡ +	0,10	300	− − − − |
0,00028	105 000	‡ ‡	‡ ‡	‡ ‡	0,08	360	+ | | ‡ +
0,00016	190 000	‡ ‡	‡ ‡	‡ ‡	0,06	450	+ + + ‡ +

Die entwicklungshemmende Wirkung des Formaldehyds ist besonders in Dampfform aufserordentlich stark. In einer Verdünnung von 1 : 1 300 000, in welcher es durch den Geruchsinn kaum noch wahrgenommen wird, vermochte Formaldehydgas noch alle drei Bakterienarten völlig zu hemmen. In Lösung wirkt es erst in 160 mal stärkerer Konzentration. Der Grund der auffallend starken Wirkung des Dampfes liegt wohl in der starken Absorptionsavidität zu Wasser.

Mit den Nährböden geht Formaldehyd chemische Verbindungen ein, aber erst bei ziemlich höherer Konzentration als die T. H. C. Nach Wesenberg (26) wird Formaldehyd von Gelatine z. B. erst bei einer Konzentration von 1 : 700 chemisch gebunden; solche Gelatine zeigt erhöhten Schmelzpunkt und ist für Bakterienwachstum ungeeignet.

Azetaldehyd $CH_3 \cdot C\genfrac{}{}{0pt}{}{:O}{\cdot H}$; m 44; d 0,8; l ∞.

		Dampf.			Lösung.		
G. C.	M. C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G. C.	M. C.	Coli comm.
0,016	2860	— — — —	— — — —	— — — —	1,35	33	— — — — ⋮
0,012	3740	|	—	—	1,0	44	— ⋮ | | |
0,009	4840	+ | +	+ + +	+ + +	0,8	53	⋮ + | + +
0,006	7470	‡ ‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡ ‡	+ ‡ ‡ ‡	0,65	68	+ + + ‡
					0,55	84	‡

Auch hier ist infolge der grofsen Wasserlöslichkeit das Verhältnis von T. H. C. (Dampf) und T. H. C. (Lösung) etwa 1 : 120.

n. Propylaldehyd $C_3H_5\genfrac{}{}{0pt}{}{:O}{\cdot H}$; m 58; d 0,83; 15 %.

Lösung.

		Coli comm.
2,5	23	— — — —
1,6	37	| | ⋮ —
1,0	58	| + ‡ ⋮
0,8	70	+ ‡ + ‡
0,4	140	+ (4th)
		Ac. (1st–2nd); — (3rd–4th)

Die Wirkung in dampfförmigem Zustand wurde nicht bestimmt.

Butylaldehyd $C_4H_7\genfrac{}{}{0pt}{}{:O}{\cdot H}$; n 72; d 0,85; l_{39^0} {iso 5 %, norm. 2 %}

n. Butylaldehyd.

		Dampf			Lösung		
G. C.	M. C.	Staph.	Coli	Pyocyan.	G. C.	M. C.	Coli
0,09	790	—	—	—	4,5	16	—
0,07	940	—	—	—	3,0	24	— —
0,055	1400	+	+	+	2,3	31	⋮ ⋮
0,045	1600	+	+	+	1,8	40	| | |
0,027	2800	‡	‡	‡	0,9	80	‡

i. Butylaldehyd.

Dampf					Lösung		
G. C.	M. C.	Staph.	Coli comm.	Pyocyan.	G. C.	M. C.	Coli
0,09	790	— —	— —	— —	3,0	24	— — — —
0,07	940	— —	— —	— —	2,3	31	— — + |
0,045	1600	— —	— —	— —	1,8	40	— + + +
0,027	2800	‡ +	‡ +	: —	1,25	58	+ + +
0,015	4700	‡ +	‡ +	‡ +	0,9	80	‡ ‡

In Lösung hemmen Iso- und Normalbutylaldehyd Bact. coli bei ungefähr gleicher Konzentration: 3 ‰, in Dampfform dagegen wirkt Isobutylaldehyd ca. doppelt so stark als Normalbutylaldehyd. Dies Verhalten erklärt sich aus der ca. $2\frac{1}{2}$ mal gröſseren Wasserlöslichkeit des ersteren. Der Quotient T.H.C. (Dampf): T.H.C. (Lösung) ist ca. 1 : 45 (n.) und 1 : 90 (i), also beträchtlich gröſser als bei Form- und Azetaldehyd, was bei der geringeren Absorptionsavidität des Butylaldehyds nicht anders zu erwarten ist.



J-Valeraldehyd $C_5H_{10} \, \vdots \, {}^{O}_{H}$; m 86.

Lösung.

G. C.	M. C.	Coli commune
2,5	35	— — — — —
1,6	52	— + | — —
1,1	78	+ + + +
0,8	103	‡ + + +
		Az. —

Die hemmende Wirkung der Dämpfe wurde nicht bestimmt.

Bei Vergleichung der gefundenen Hemmungskonzentrationen ergibt sich, daſs die entwicklungshemmende Wirkung mit steigendem Molekulargewicht bei den niedersten Aldehyden rasch fällt, bei den höhern ungefähr gleich bleibt. Die Aldehyde verhalten sich hierin also umgekehrt wie die Alkohole. Bei den Dämpfen erscheint der Abfall der Wirkung wegen der abnehmenden Wasserlöslichkeit bei den höhern Gliedern noch deutlicher, wie in folgender Tabelle ersichtlich ist.

Molekulare Hemmungskonzentrationen gegenüber Bact. coli.

	CH_2O	C_2H_4O	C_3H_6O	C_4H_8O	i$C_5H_{10}O$
Lösung .	1 : 330	1 : 39	1 : 34	1 : 31	1 : 40
Dampf .	1 : 60 000	1 : 4200	—	1 : 1200	—

Acroleïn (Allylaldehyd) $CH_2:CH.\,C\genfrac{}{}{0pt}{}{:O}{:H}$; m 56; l_{20} 2,5%.

Nach Untersuchungen von Koch & Fuchs (13) soll Acroleïn in Lösung stärker bakterizid auf Staphylococc. pyog. aur. und Bact. pyocyaneum wirken als Formaldehyd, gegenüber Bact. coli sei das Verhältnis umgekehrt.

Acroleïn.

Dampf					Lösung		
G.C.	M.C.	Staph.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,017	3700	— — —	— — —	— — —	0,3	170	— — — —
0,01	5600	‡ + +	‡ + +	+ — —	0,25	225	— — —
0,005	11200	‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡	+ ‡ +	0,20	280	| | |
0,003	17000	‡ ‡	‡ ‡	‡ ‡	0,17	330	+ + + +

Nach meinen Versuchen ist die entwicklungshemmende Wirkung des Acroleïns durchgehend geringer als die des Formaldehyds, hingegen infolge der Allylgruppe bedeutend stärker als die des Propylaldehyds. Mit dem Nährboden geht Acroleïn wie alle ungesättigten Verbindungen chemische Umsetzungen ein (Braunfärbung von Agar).

Thioverbindungen.

Die Einwirkung organischer Thioverbindungen auf Bakterien ist noch wenig untersucht. Von Schwefelkohlenstoff ist die starke antibakterielle Wirkung schon lange bekannt. Sonst noch wurden untersucht: Allylsulfid (Cassella 9) sowie Allylsenföl (Koch 14), das nach Koch in Dampfform Milzbrandbazillen in einer Verdünnung von 1 : 33000 noch völlig hemmt. Nach eigenen Versuchen ist die T.H.C. ca. 1 : 1000000, also ungefähr wie bei Formaldehyd.

Schwefelkohlenstoff CS_2; m 76; d 2,6 $l_{87^{\circ}} \cdot 1{,}25$ ‰.

Dampf.					Lösung.		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,65	115	− −	− −	− −	1,8	56	− − − − − −
0,32	230	+ + +	− − −	− − −			
0,16	460	‡ + +	− − −	− − −	1,0	76	+ : − − − −
0,10	760	‡ ‡	− −	− −	0,75	100	+ + | | | + −
0,07	1000	+ +	− |	− |	0,52	150	‡ ‡ + ‡ ‡ + |
0,05	1500	‡ + +	− + +	− − |			
0,026	3000	‡ ‡ ‡	‡ ‡ ‡	− + ‡	0,26	300	‡ ‡ +
0,018	6000	‡ ‡	‡ ‡	‡ ‡			Ae Ac RK

Die hier angeführten T.H.C. von CS_2-Lösungen haben nur bis zu einem Zeitraum von 40 Stunden Gültigkeit, später trat regelmäfsig Wachstum ein. Diese vorübergehende Wirkung des CS_2 in Lösung beruht wohl darauf, dafs es sich allmählich mit dem Nährboden chemisch verbindet und dadurch unwirksam wird. Solche chemische Umsetzungen mit dem Nährboden sehen wir bei allen Thioverbindungen, sie manifestieren sich durch eine zunehmende Trübung und Gelbfärbung der Nährböden infolge freigewordenen Schwefels.

Thioäthylalkohol (Merkaptan) C_2H_5SH; m 62; d 0,83.

Sehr wenig wasserlösliche Flüssigkeit von üblem, durchdringendem Geruch.

Dampf.					Lösung.		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,50	125	− − −	− − −	− − −	2,5	25	− − − −
0,25	250	− −	− −	− −			
0,16	400	+ −	− −	− −	1,6	38	− − − −
0,08	800	− +	− −	− −	0,8	77	+ + − −
0,04	1600	‡ + +	− − +	− − −			
0,025	2500	‡ ‡ ‡	+ | +	− − −	0,4	155	+ + + +
0,012	5100	‡	+	+			R.K. Ac

Thioäthyläther (Äthylsulfid) $C_2H_5 \cdot S \cdot C_2H_5$ m 90. d 0,84. Ebenfalls übelriechende, schwer wasserlösliche Flüssigkeit.

Dampf.					Lösung.		
G.C.	M.C.	Staph. aur.	Coli comm.	Pyocyan.	G.C.	M.C.	Coli comm.
0,9	100	— —	— —	— —	8,4	11	— — —
0,5	180	+	—	—	4,2	21	— — : —
0,3	300	ǂ ǂ	— :	— —	2,5	36	| | | + —
0,2	450	ǂ ǂ	+ +	— —	1,6	56	+ —
0,1	900	ǂ ǂ	ǂ ǂ	+ +	0,8	112	+ + ǂ +
							R.K. Ac

In den obigen Tabellen fällt der grofse Unterschied zwischen den T.H.C. von Staphylokokken und denjenigen von Bact. coli und Pyocyaneum auf (5—10:1). Eine solche elektive Wirkung einer Verbindung auf gewisse Bakterien bezeichnen wir nach Bechhold (4) als »halbspezifische«. Gegenüber der bei den Alkoholen und besonders bei Azetal und Azeton beobachteten Resistenzabnahme meiner Stämme war eine solche gegenüber den Thioverbindungen nicht zu konstatieren. Dieses ungleiche Verhalten läfst vielleicht auf einen verschiedenen Angriffspunkt der entwicklungshemmenden Einwirkung differenter Stoffe am Protoplasma schliefsen. Vergleichen wir endlich noch die antibakterielle Wirkung obiger Thioverbindungen mit derjenigen der analogen O-haltigen Körper.

Molekulare Hemmungskonzentrationen.

Dampf gegenüber bact. pyocyan.				Lösung gegenüber bact. coli			
CO_2	—1 (Frankland 11)	CS_2	— 760	CO_2	— —	CS_2	— 60
C_2H_5OH	— 160	C_2H_5SH	— 2500	C_2H_5OH	— 1,2	C_2H_5SH	— 38
$C_4H_{10}O$	— 100	$C_4H_{10}S$	— 450	$C_4H_{10}O$	— 3	$C_4H_{10}S$	— 21

Die Ersetzung des O durch S in organischen Verbindungen steigert also die bakterienfeindliche Wirkung beträchtlich, wie sie auch die Tiertoxizität erhöht.

Betrachten wir zum Schlufs noch, wie weit die früher abgeleitete Theorie der Wirkung eines Stoffs in Lösung und in Dampfform mit unseren Versuchsresultaten übereinstimmt. Wir fanden:

$$A_1 = 62{,}32 \frac{l\,T}{m\,P}$$

A_1 Absorptionsgröfse für 1‰ Dampf
l Wasserlöslichkeit
T absolute Temperatur
m Molekulargewicht
P Druck d. gesättigten Dampfes.

1. Für Stoffe, die sich mit dem Nährboden chemisch nicht verbinden, in Wasser nur begrenzt lösbar und als Dampf nicht wesentlich polymerisiert sind, gilt die Proportion:

$$A_1 : \text{T.H.C. (Lösung)} = 1 : \text{T.H.C. (Dampf)};$$

folglich ist: $$\text{T.H.C. (Dampf)} = \frac{\text{T.H.C. (Lösung)}}{A_1}.$$

Für diese Stoffe ist T.H.C. (Dampf), berechnet aus der T.H.C. (Lösung), annähernd gleich T.H.C. (Dampf) beobachtet.

2. Für Stoffe, die mit dem Nährboden sich chemisch umsetzen, fanden wir T.H.C. (Dampf) berechnet > T.H.C. (Dampf) beobachtet. (Aldehyde, Thioverbindungen.)

3. Für in Wasser unbegrenzt lösliche Verbindungen läfst sich A_1 nicht berechnen (niedere Alkohole und Aldehyde).

Verbindung	m	l 37° ‰	P 37° mm kg	THC (Lösung) beobacht.	THC (Dampf) beobacht.	THC (Dampf) berechn.	Reagiert mit Nährboden
Äthyläther	174	47	810	ca. 26	ca. 1,7	1,7	nicht
Chloroform	120	7	325	ca. 1,5	ca. 0,35	0,43	nicht
Azetal	118	40	145	ca. 3,2	ca. 0,75	0,71	nicht
J-Butylaldehyd . .	72	50	298	ca. 2,6	ca. 0,035	0,058	schwach
Schwefelkohlenstoff .	76	1,2	557	ca. 1,2	ca. 0,10	2,2	stark

Die Übereinstimmung der beobachteten und der berechneten Werte von T.H.C. (Dampf) ist also eine recht gute in Anbetracht, dafs Wasser- und Bouillonlöslichkeit der untersuchten Stoffe nicht genau gleichgrofs sind.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Bei den von uns untersuchten Verbindungen hat sich folgender Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und entwicklungshemmender Wirkung ergeben:

a) Bei aliphatischen Alkoholen nimmt die hemmende Wirkung mit steigendem Molekulargewicht zu. (Bestätigung der Befunde von Wirgin.)

b) Bei aliphatischen Aldehyden tritt bei den niedern Homologa umgekehrt ein rascher Abfall der Wirkung ein.

c) Die Ersetzung des Sauerstoffs durch Schwefel in aliphatischen Verbindungen erhöht die entwicklungshemmende Wirkung beträchtlich.

2. Lösung und Dampf einer flüchtigen organischen Verbindung mit gleichem Partialdruck des wirksamen Stoffs haben gleiche entwicklungshemmende Wirkung.

Die Hemmungskonzentration des einen Zustands läfst sich aus derjenigen des andern bei Kenntnis gewisser Konstanten der Verbindung auf Grund des Henryschen Verteilungsgesetzes berechnen.

3. Eine Ausnahme machen Stoffe, die mit dem Nährboden in chemische Reaktion treten. Dämpfe solcher Stoffe wirken stärker entwicklungshemmend als Lösungen mit anfänglich gleichem Partialdruck.

4. Für die von uns untersuchten Stoffe wurden folgende Werte der molekularen Totalhemmungskonzentrationen gefunden.

Verbindung	m	in Dampfform			in Lösung
		Staphylokokk. pyog. aur.	Bact. coli commune	Bact. pyocyaneum	Bact. coli commune
Äthyläther	74	keine Hemmung	1:50	1:75	1:2,6
Azetal	118	1:1000	1:1200	1:1800	1:38
Chloroform	119	1:200	1:320	1:320	1:80
Azeton	58	1:100	1:100	1:150	1:0,8
Methylalkohol	32	1:54	1:54	1:80	1:0,5
Äthylalkohol	46	1:100	1:100	1:160	1:1,1
Propylalkohol	60	1:300	1:400	1:500	1:2,5
Amylalkohol	87	1:1000	1:1600	1:1600	1:13

Verbindung	m	in Dampfform Staphylococc. pyog. aur.	Bact. coli commune	Bact. pyocyaneum	in Lösung Bact. coli commune
Allylalkohol . . .	58	< 1:1200	< 1:1200	< 1:1200	1:25
Formaldehyd . . .	30	1:38 000	1:45 000	1:33 000	1:300
Azetaldehyd . . .	53	1:3000	1:3700	1:3700	1:33
Propylaldehyd . . .	59	—	—	—	1:29
Butylaldehyd . . .	73	1:1600	1:1600	1:1600	1:24
J. Amylaldehyd . .	87	—	—	—	1:44
Allylaldehyd . . .	56	1:3700	1:3700	1:4600	1:225
Schwefelkohlenstoff .	76	1:115	1:880	1:880	1:56
Thioalkohol	62	1:250	1:1200	1:3600	1:58
Thioäther	90	1:100	1:300	1:450	1:20
Phenol	82	—	—	—	1:43

(Die obigen Zahlen sind Mittelwerte.)

Zum Schlufs erfülle ich noch die angenehme Pflicht, meinem verehrten, ehemaligen Chef, Herrn Prof. W. Silberschmidt zu danken für seine Ratschläge und das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte; ebenso bin ich Herrn Prof. Pfeiffer, Zürich, sowie Herrn Dr. Rosenthal, Göttingen, für ihre liebenswürdige Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

1. Aronson, Über die antiseptischen Eigenschaften des Formaldehyd. Berl. klin. Wochenschr. 1892, Nr. 30.
2. Behring, Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9, S. 395.
3. —, Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Infektion und Desinfektion. Leipzig 1894.
4. Bechhold, Halbspezifische Desinfektionsmittel. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 64, S. 113.
5. Bechhold & Ehrlich, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung. Hoppe Seylers Zeitschrift für phys. Chemie Bd. 47, S. 173.
6. Beitzke, Über Desinfektionsversuche mit Azetaldehyd. Hyg. Rundschau Bd. 11, S. 425.
7. Buchholz, Antiseptika und Bakterien. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1875, Bd. 4, S. 1.

8. **Buchner & Segall:** Über gasförmige antiseptische Wirkung des Chloroforms, Formaldehyds und Creolins. Münchner med. Wochenschr. 1889, Nr. 29, S. 341.
9. **Casella**, Über die bakterizide Wirkung des Lauchsaftes und des Sulfallyls. Ref. Baumgartens Jahresber., Bd. 14.
10. **Frank**, Über Desinfektionswirkung des Alkohols, insbesondere der Alkoholdämpfe. Münchn. med. Wochenschr. 1901, S. 134.
11. **Frankland**, Über den Einfluſs der Kohlensäure und anderer Gase auf die Entwicklungsfähigkeit der Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6 S. 12.
12. **Kirchner**, Über die Einwirkung des Chloroforms auf die Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8 S. 465.
13. **Koch** E. & **Fuchs** G., Über den antibakteriellen Wert des Acroleïns. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 26, S. 560,
14. **Koch** Rob., Über Desinfektion. Mitteilg. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 1, S. 234.
15. **Krönig & Paul**, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25, S. 1.
16. **Laubenheimer**, Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. Berlin 1909.
17. v. **Lingelsheim**, Über die milzbrandfeindlichen Wirkungen von Säuren und Alkalien im Blutserum. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8, S. 201.
18. **Löw** O. & E. **Fischer**, Über Formaldehyd und dessen Kondensation. Erdmanns Journ. f. prakt. Chemie 1886, Bd. 141, S. 321.
19. **Lossen**, Beiträge zur Kenntnis der desinfizierenden Wirkung des Chloroforms, besonders im gasförmigen Zustand. Dissertation Heidelberg. Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. 15.
20. **Paul & Prall**, Die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln mit Staphylokokken, die bei der Temperatur der flüssigen Luft aufbewahrt wurden. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 1907, Bd. 26, S. 129.
21. **Riedlin**, Versuche über die antiseptische Wirkung des Jodoforms, der ätherischen Öle und einiger anderer Substanzen. Arch. f. Hyg. Bd. 7, S. 309.
22. **Rothert**, Über den Einfluſs von Äther und Chloroform auf die Mikroorganismen. Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. 30, S. 38.
23. **Salkowsky**, Über die antiseptische Wirkung des Chloroformwassers Deutsche med. Wochenschr. Bd. 16, S. 309.
24. **Schneider & Seligmann**, Studien zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58, S. 413.
25. **Trillat**, Compt. rend. de l'acad. scient. Paris 114.
26. **Wesenberg**, Über die Erhöhung des Schmelzpunktes der Gelatine durch Formalinzusatz. Hyg. Rundschau Bd. 12.
27. **Wirgin** G., Vergleichende Untersuchungen über die keimtötenden und die entwicklungshemmenden Wirkungen von Alkoholen der Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Amylreihen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44, S. 149.
28. —, Zur Wirkung des Äthylalkohols auf Mikroorganismen. Zeitschrift f. Hygiene Bd. 40, S. 307.

Beiträge zum Studium der Milzbrandinfektion.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail** und Privatdozent Dr. **Edmund Weil.**

(Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der deutschen Universität Prag.)

Das Problem der Milzbrandinfektion empfänglicher Lebewesen ist trotz aller Bemühungen im wesentlichen noch ebenso ungelöst wie das der Widerstandskraft natürlich immuner Tiere. Alle Versuche, das Einsetzen von Infektion oder Nichtinfektion lediglich auf das Fehlen oder Vorhandensein milzbrandfeindlicher Stoffe in den Säften oder den Zellen des Tierkörpers zurückzuführen, können als gescheitert angesehen werden, so wertvolle Ergebnisse auch die betreffenden Untersuchungen im einzelnen hatten.

Für die Körpersäfte, voran das Blut und Serum, ist dies seit dem Hinweise von Lubarsch über die Nichtübereinstimmung von keimfeindlicher Serumaktivität und Milzbrandempfänglichkeit bei den meisten Tieren längst anerkannt. Aber auch die Untersuchung der Zellwirkungen, welche in neuerer Zeit mit hochentwickelter Technik in Angriff genommen wurde, führte zunächst nur zu Unstimmigkeiten mit dem Verhalten der die Zellen liefernden Tierart gegen eine Infektion. So weist das hochempfindliche Meerschweinchen bei geeigneter Versuchsanordnung bakterizide Leukozyteneffekte auf, welche die des doch weniger empfindlichen Kaninchens weitaus übertreffen und

einen Infektionsschutz mindestens für eine intraperitoneale Infektion erwarten liefsen, der doch in keiner Weise vorhanden ist, soweit ein Ausbleiben der Infektion in Frage kommt; nur gewisse Besonderheiten der intraperitonealen Infektion vermag die Leukozytenbakterizidie einigermafsen zu erklären.

Es tritt bei einem Überblicke der zahlreichen und genauen Experimente ganz deutlich hervor, dafs man das Problem der Milzbrandinfektion nicht lösen kann, solange man einzig und allein die Körperschutzmittel als aktiv betrachtet, während man dem Bazillus nur eine passive Rolle zuteilt, also die Möglichkeit einer Infektion nur danach beurteilt, ob der oder jener tierische Organismus genügende, fast stets nur als bakterizid gedachte Schutzkräfte hat oder nicht.

Eine derartige Betrachtungsweise mifsachtet geradezu das Wesen der Infektion. Denn diese bedeutet ja das Leben des einen Organismus innerhalb eines zweiten. Dort, wo der infizierte Makroorganismus die für sein Leben charakteristischen Funktionen ausübt, sucht gleichzeitig der infizierende Mikroorganismus in seiner Weise zu funktionieren. Damit ist gesagt, dafs beide Funktionen sich gegenseitig beeinflussen müssen, dafs beide in der Infektion vereinte Lebewesen Veränderungen ihres normalen Funktionsablaufes erfahren werden. Wenn der Makroorganismus die Funktionen des Mikroorganismus tiefgehend verändern, eventuell bis zur Zerstörung von dessen Vitalität beeinflussen kann, so kann anderseits auch der letztere auf den ersteren einwirken. Die blofse Konstatierung der Fähigkeit eines Tieres, mit seinen Körpersäften oder Zellen den Milzbrandbazillus zu schädigen oder zu vernichten, erklärt nichts, wenn gleichzeitig festgestellt werden kann, dafs der Bazillus über die Fähigkeit verfügt, diese aufzuheben. Bei der Infektion ist sowohl der infizierende wie der infizierte Organismus aktiv und nur die überwiegende Aktivität des einen oder des anderen entscheidet das Schicksal der Infektion.

In neuerer Zeit hat man nun tatsächlich auf das Verhalten der Milzbrandbazillen im infizierten Tiere achten gelernt. Morphologische Veränderungen, insbesondere die Ausbildung einer mehr

oder minder mächtigen Kapsel, fielen zuerst auf und bald folgte die Feststellung, dafs auch physiologisch zwischen Tier und Kulturbazillen Unterschiede in der Phagozytoseresistenz der ersteren bestehen (Deutsch, Löhlein). Da man die Phagozytose als ein wichtiges Schutzmittel des Organismus betrachtet, so erschienen die Tierbazillen überhaupt für das Leben im Organismus besser ausgerüstet zu sein, und Preisz und Gruber und Futaki nahmen eine allgemein gröfsere Widerstandskraft der Tierbazillen gegen die bakteriziden Körperkräfte an. Damit ist aber umgekehrt die Wehrlosigkeit des infizierten Organismus gegeben, sobald sich einmal tierische Bazillen ausgebildet haben.

Eine eigentlich aktive Rolle teilt auch diese Auffassung den Bazillen nur insofern zu, als sie die Fähigkeit haben, sich in den kapseltragenden Zustand umzuwandeln. Ist dies einmal geschehen, so tritt Infektion auf, weil die Schutzkräfte des Organismus den Bazillen nicht mehr schaden können.

Die antiblastische Theorie Ascolis sieht das Wesen der Milzbrandimmunität in der Fähigkeit des Organismus, die Umwandlung des Bazillus in seinen kapseltragenden Zustand zu verhindern, während Milzbrandempfänglichkeit besteht, wenn die Ausbildung dieses Zustandes ungestört vor sich geht.

Genauere Untersuchungen haben gezeigt, dafs die Anschauungen von Preisz, Gruber und Futaki über die höhere Widerstandsfähigkeit tierischer Bazillen nicht zutreffen können. Ganz übereinstimmend stellten Tsuda, Toyosumi und Fischöder fest, dafs in tierischen Flüssigkeiten wie bei der Verwendung von Zellen die kapselhaltigen Bazillen der Abtötung geradeso gut unterliegen wie Kulturbazillen, und auch die neueste Arbeit von Donati verzichtet auf diese Erklärungsweise. Im folgenden sind Beispiele gegeben, welche sogar auf eine verminderte Resistenz der tierischen Bazillen gegen Leukozytenstoffe hinweisen und zeigen, dafs das Verhalten derselben gegen die im Reagenzglase zu studierenden keimfeindlichen Wirkungen ein vollständig anderes ist als das der Kulturbazillen.

Es bleibt also nur die Phagozytoseresistenz, welche die Kapselbazillen auszeichnet und die man als ein Zeichen gröfserer

Haltbarkeit gegen die Zellen des Organismus ansehen könnte; wenn man sich aber überzeugt, wie hinfällig tierische Bazillen im bakteriziden Plattenversuche mit leukozytenreichen Meerschweinchenexsudaten sind, dessen Zellen lebend oder abgetötet verwendet werden, so wird man dem Statthaben oder Ausbleiben der Phagozytose wenigstens für diesen Fall eine besonders hervorragende Bedeutung nicht zuschreiben können, während die von Weil als aphagozid bezeichnete Zellwirkung von gröfster Wichtigkeit sein mufs.

Auch im Tierversuche läfst sich eine wesentlich höhere Resistenz der tierischen Bazillen nicht mit Sicherheit anschaulich machen. Die bekannte, von Deutsch zuerst genauer beschriebene Erscheinung, dafs intraperitoneal injizierte Milzbrandbazillen bei Meerschweinchen rasch aus der Bauchhöhle verschwinden, um erst später wieder in derselben zu erscheinen, trifft sowohl für Tier- wie Kulturbazillen zu; nur wenn man von vornherein gröfsere Mengen der ersteren injiziert, kann man sehen, dafs sie in der Peritonealflüssigkeit bleiben, aber auch da in der ersten Zeit nicht unbeschränkt wachsen.

Trotzdem kommt zweifellos den Tierbazillen eine gröfsere Infektiosität als gewöhnlichen Kulturbazillen zu. Nur das beweisen die Versuche Grubers und Futakis mit intravenöser Infektion von Kaninchen, sowie der Umstand, dafs bei intraperitonealer Meerschweincheninfektion mit Kapselbazillen diese früher in der Bauchhöhle wieder auftreten und im Blute erscheinen als nach Injektion von Kulturen. Diese Tatsache findet aber keine Erklärung durch die Formel: Tierbazillen sind infektiöser, weil sie gegen die Körperschutzmittel widerstandsfähiger sind, sondern sie führt zu der neuen Frage: Wieso besitzen Tierbazillen eine höhere Infektiosität, obwohl sie den Körperkräften ebenso, unter Umständen sogar noch leichter erliegen als Kulturbazillen?

Es schien zweckmäfsig, die Wirkung von Körperflüssigkeiten infizierter Tiere zu untersuchen, um durch Vergleich mit dem Verhalten solcher von normalen Tieren Unterschiede der keimfeindlichen Fähigkeiten festzustellen. Bei den diesbezüglichen Reagenzglasversuchen sollten so viel als möglich die Verhältnisse

der intraperitonealen Meerschweincheninfektion nachgeahmt werden, wo die Bazillen sowohl den Angriffen der Zellen wie der Körperflüssigkeit ausgesetzt sind.

Sammelt man durch eine vorangehende Bouilloneinspritzung ein steriles, zellreiches Exsudat in der Bauchhöhle an und impft dann mit tierischen Bazillen, so bemerkt man auch bei reichlicher Bakterienmenge das gleiche Verschwinden derselben aus dem Bauchraume, wie dies für eine Kulturbazilleninjektion lange bekannt ist. Durch geeignete Versuche überzeugt man sich leicht, dafs dieses mindestens zum grofsen Teil auf einer wirklichen Bakterienvernichtung beruht, ohne dafs dabei die Phagozytose eine besondere Rolle spielen kann. Wenn man einige Zeit später — deren Länge wesentlich von der Zahl der eingeimpften Bazillen abhängt — neuerlich Bazillen auftreten und sich nun im angesammelten Exsudate, das sich in der Art, der Zahl und dem Aussehen der Leukozyten gar nicht geändert hat, schrankenlos vermehren sieht und auch diese neuen Bazillen sich gegenüber frischen Leukozyten und Serum nicht als resistent erweisen, so mufs man sich fragen, was mit dem Exsudate vorgegangen ist, das, ohne sein Aussehen zu ändern, seine frühere milzbrandfeindliche Kraft vollkommen eingebüfst hat.

Experimentell läfst sich das Thema im Reagenzglasversuche leicht bearbeiten, wenn man sterile Exsudate normaler Tiere oder wirksame Serum-Leukozytengemische mit Milzbrandexsudaten versetzt, welche vorher von lebenden Bazillen möglichst befreit sind, und dann die bakterizide Wirkung auf zugesetzte tierische Bazillen im Plattenversuche prüft. Durch die Untersuchungen von Tsuda und Weil und Nunokawa sind die Verhältnisse der Leukozytenbakterizidie beim Meerschweinchen bekannt.

Die Versuchsanordnung war in der Regel folgende. Zur Gewinnung normaler, leukozytenreicher Exsudate wurden grofsen Meerschweinchen mindestens 20 ccm Bouillon intraperitoneal injiziert; etwa 16 Stunden später liefsen sich aus der Bauchhöhle der verbluteten Tiere oft sehr grofse Mengen (bis zu 15 ccm) trüben, dicklichen Exsudates entnehmen. Ausspülen der Bauchhöhle mit Kochsalzlösung, die dann abzentrifugiert wurde, lieferte

weitere Zellmengen. Meist wurden die gesamten Leukozyten eines Tieres vereint, in bestimmten Quantitäten von Kochsalzlösung verteilt und je nach der Zahl der anzustellenden Proben in Eprouvetten gebracht. Sollten z. B. zwölf Proben hergestellt werden und gleichviel Zellen enthalten, so wurden die aus dem Exsudate und der Spülflüssigkeit durch Zentrifugieren isolierten Leukozyten in 24 ccm Kochsalzlösung gleichmäfsig verteilt und zu je 2 ccm in zwölf Gläsern neuerlich zentrifugiert. Die Bodensätze enthielten dann die gewünschte Zellmenge, welche in den entsprechenden Versuchsflüssigkeiten verteilt wurden. Die Menge der Zellen war stets eine sehr reichliche (ca. 0,1 g), so dafs nur sehr dichte Aufschwemmungen zur Anwendung kamen. Nach der Einsaat der Bazillen und öfter während des Versuches wurden die abgesetzten Zellen aufgeschüttelt. Stärker bluthaltige Exsudate wurden nicht zum Versuche genommen. Abweichungen dieser typischen Anordnung sind in den Protokollen besonders vermerkt.

Leukozyten von Tauben wurden durch intraperitoneale Injektion von Aleuronatbrei, der mit Bouillon verdünnt war, gewonnen. Freies Exsudat erhält man dabei selten und nur in geringer Menge; doch erhält man durch Ausspülen der verschiedenen Peritonealabteilungen Leukozyten in ansehnlicher Ausbeute. Es wurde aber fast stets mit diesen Leukozyten auch das Knochenmark der Taube verwendet, dessen Gewinnung aus den Röhrenknochen der unteren Extremitäten nur dann Schwierigkeiten machte, wenn zahlreiche Knochenbälkchen die Markhöhle durchziehen, was bei manchen Tieren vorkam. Das möglichst steril entnommene Mark wurde auf einem Drahtnetze sanft zerdrückt und mittels Kochsalzlösung in eine untergestellte Schale gespült. Beim Zentrifugieren auf einer Wasserzentrifuge geringer Umdrehungszahl setzten sich die brauchbaren Zellen, welche dann mit den Leukozyten der Bauchhöhle vereint wurden, allerdings mit roten Blutkörperchen vermengt, ab, während das störende Fett zum gröfsten Teile oben blieb und mit der Flüssigkeit abgegossen werden konnte.

Von Körperflüssigkeiten milzbrandinfizierter Tiere kam namentlich das Peritonealexsudat, überdies Pleuraexsudat, Unter-

hautödem und Serum zur Verwendung. Fast ohne Ausnahme erfolgte die Infektion von Meerschweinchen intraperitoneal mit 2—5 ccm frischer, meist unmittelbar aus dem Tier gewonnener Bouillonkultur. Etwa 20 Stunden später wurde das Tier, wenn es nicht schon erlegen war, durch Verbluten getötet. So gut wie immer liefsen sich aus der Bauchhöhle 6—12 ccm und mehr trüben, dicklichen Exsudates entnehmen, das neben vollständig normalen Leukozyten (auf diesen Punkt wurde besonders geachtet) in gröfster Menge kapselhaltige Bazillen enthielt. Sehr oft waren auch in beiden Pleurahöhlen einige Kubikzentimeter Exsudates angesammelt, das im allgemeinen das gleiche mikroskopische Bild darbot, nur dafs sowohl die Zahl der Zellen wie die der Bazillen eine geringere war. Das Herzblut enthielt stets schon in mehr oder weniger grofser Zahl Bazillen. So gut wie ausnahmslos zeigte es überdies eine starke Hyperleukozytose, die zwar nicht zahlenmäfsig festgestellt wurde, aber schon bei blofser mikroskopischer Betrachtung auffiel.

Durch Zentrifugieren bei hoher Tourenzahl liefs sich der gröfste Teil der Bazillen aus diesen Flüssigkeiten entfernen, doch war meist nicht Zeit genug, das Zentrifugieren bis zur vollständigen Keimfreiheit derselben fortzusetzen (was möglich ist), da fast stets nur ganz frische Flüssigkeiten zur Verwendung kamen. Der in jedem solchen Falle eigens ermittelte Bazillengehalt trübte anfangs die erhaltenen Resultate; als sich später herausstellte, dafs man milzbrandige Flüssigkeiten ohne allzu grofsen Verlust ihrer Wirkung erhitzen könne, wurden sie erst nach ½stündiger Erwärmung auf 56—60° angewendet. Nicht überflüssig dürfte die Bemerkung sein, dafs die Verteilung der Zellen in den schon an sich etwas dicklichen Exsudaten, welche durch die Erwärmung meist noch zähflüssiger werden, nicht ganz leicht ist, aber mit grofser Sorgfalt angestrebt werden mufs.

Vorwiegend wurde mit einem sehr infektiösen Stamme, »Sobernheim«, gearbeitet, nur zur Kontrolle wurden gelegentlich auch andere, stets nur virulente Stämme herangezogen. Seit Weils und Nunokawas Untersuchungen weifs man, dafs verschiedene Stämme sich im Reagenzglasversuche etwas verschieden

verhalten können; die im folgenden festzustellenden Eigenschaften stimmten bei allen verwendeten Stämmen im ganzen überein.

Es ist bekannt, dafs Meerschweinchenleukozyten, in Meerschweinchenflüssigkeiten aufgeschwemmt, tierische Milzbrandbazillen sehr stark abzutöten vermögen, und zwar viel energischer, als wenn man sie in Kochsalzlösung suspendiert (Tsuda). Nimmt man aber als Aufschwemmungsflüssigkeit der normalen Zellen das Serum oder die Exsudatflüssigkeit milzbrandiger Tiere, so hört die Bakterizidie mehr oder weniger vollständig auf.

Tabelle 1.

Meerschweinchen 1 erhält sterile Bouillon ip. und liefert Serum und Leukozyten, die durch Zentrifugieren isoliert und verteilt werden.

Meerschweinchen 2 erhält 5 ccm Milzbrandbouillon ip. und stirbt 24 Stunden später. Aus der Bauchhöhle lassen sich ca. 10, aus beiden Pleuren ca. 5 ccm trüber, bazillenreicher Flüssigkeit entnehmen. Überdies liefert Anschneiden des Herzens noch reichlich Blut zur Serumgewinnung. Nach gründlichem Zentrifugieren enthielten: 0,5 ccm der Peritonealflüssigkeit = 59, ebensoviel der Pleurafl. und des Serums = 0 Keime. — Zur Einsaat diente stark verdünntes Pleuraexsudat; in jede Probe kamen 4200 Bazillen. Die Technik für diesen und alle übrigen Plattenversuche war die im Institute übliche: Die Einsaat erfolgte in jede Probe tropfenweise, wobei die Keimzahl des Tropfens durch eine Agarplatte bestimnt wurde. Nach vierstündigem Aufenthalte der oft umgeschüttelten Proben bei 37° wurde der ganze Inhalt jedes Röhrchens mit Agar vermischt und zur Platte ausgegossen.

				Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,5	ccm Normalmeerschweinchenserum	78
2.	›	+ 0,5	› Milzbrandserum	ca. 9000
3.	›	+ 0,5	› Pleuraexsudat	1656 [1])
4.	›	+ 0,5	› Peritonealexsudat	über 10000
5.	›	+ 0,5	› Kochsalzlösung	100.

Die Proben 6—10, welche die gleichen Flüssigkeiten ohne Zellen enthielten, lieferten bis auf die Kochsalzlösung über 20000 Kolonien.

Tabelle 2.

Analog dem Versuche in Tabelle 1 angestellt.

In 0,5 ccm waren enthalten: von Peritonealexsudat = 968, von Milzbrandserum = 0 Keime. Einsaat = 9800 Bazillen aus Peritonealexsudat.

1.	Leukozyten	+ 0,5	ccm Milzbrandserum	7200
2.	›	+ 0,5	› Normalserum	76
3.	›	+ 0,5	› Milzbrandexsudat . . .	4872
4.	›	+ 0,5	› Normalexsudatfl. . . .	66
5.	›	+ 0,5	› Kochsalzlösung	648.

1) Nicht einwandfrei, weil die Probe gänzlich geronnen war.

Von den entsprechenden Flüssigkeiten ohne Zellen lieferte die Kochsalzlösung ca. 20000, die übrigen 70—100000 Kolonien.

Weitere das gleiche beweisende Versuche werden weiter unten noch in groſser Zahl angeführt werden. Sie zeigen, daſs Körperflüssigkeiten von infizierten Tieren nicht mehr die Fähigkeit haben, mit normalen Leukozyten vom Meerschweinchen die für diese Kombination charakteristische starke Bakterizidie zu liefern. Das hat auf den ersten Blick nichts Auffallendes an sich, da durch die Versuche von Weil bekannt ist, daſs die Behandlung der Körpersäfte mit Bazillensubstanz deren kombinierte Wirkung mit Zellen beeinträchtigt oder auch ganz aufhebt. Diese Aufhebung erfolgt in nicht spezifischer Weise, d. h. ein Serum wird unfähig, mit Leukozyten zusammenzuwirken, wenn es mit toten Milzbrand oder Cholera oder Typhusbazillen behandelt worden ist (Bindung des leukotaktischen Immunkörpers nach Weil). Es fragt sich allerdings, ob im Exsudate eines lebenden Meerschweinchens beim Wachstum der Milzbrandbazillen das gleiche geschieht wie bei der eingreifenden Behandlung einer Körperflüssigkeit mit Bazillen auſserhalb des Tierkörpers. Die Beobachtung der Verhältnisse in der Bauchhöhle des lebenden infizierten Tieres sprechen nicht dafür; denn es ist bekannt, daſs Milzbrandbazillen aus Kulturen, welche in die von Bakterien erfüllte Bauchhöhle injiziert werden, daselbst nicht nur der Phagozytose sondern auch einer extrazellulären Degeneration unterliegen. Es kann also im infizierten Tiere eine vollkommene Aufhebung der Zell-Serumwirkung nicht stattgefunden haben. Die Reagenzglasversuche, die darüber in der Weise angestellt wurden, daſs die Zellen normaler Tiere in Körperflüssigkeiten aufgeschwemmt wurden, welche vorher eine eingreifende Behandlung mit toten Bazillen durchgemacht hatten, verliefen nicht ganz übereinstimmend: manchmal war Meerschweinchenserum oder Exudatflüssigkeit nach der Einwirkung toter tierischer Bazillen noch ziemlich ebenso wirksam wie vorher, manchmal hatte es gelitten.

Tabelle 3.

Meerschweinchen 1 lieferte nach einer vorangegangenen Bouilloninjektion normales, leukozytenreiches Exsudat, Meerschweinchen 2 wurde

20 Stunden nach ip. Injektion von Milzbrandbouillon verblutet. Die sehr zahlreichen Bazillen des Peritonealexsudates wurden durch Zentrifugieren isoliert, gewaschen, in 3 Teilen 1 Stunde auf 60—65° erhitzt und mit je 1,5 ccm Normalexsudatflüssigkeit, Normalserum und Kochsalzlösung 1/2 Stunde bei 37° behandelt; die danach klar zentrifugierten Flüssigkeiten dienten zum Versuche.

Die Isolierung der Bazillen eines Exsudates macht in der Regel keine besonderen Schwierigkeiten. Beim Zentrifugieren des Exsudates setzen sich zwei Schichten ab; die unterste, fest am Glase haftende, enthält die meist recht zahlreichen Leukozyten, die darüberstehende, viel lockerere, die sich infolgedessen leicht in zugesetzter Kochsalzlösung aufschwemmen läfst, besteht fast nur aus Bazillen, die dann neuerlich auf der Zentrifuge gewaschen werden können.

				Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,5 ccm	Milzbrandserum	ca. 30000
2.	»	+ 0,5 »	Milzbrandexsudat . . .	24000
3.	»	+ 0,5 »	Normalexsudatfl.	0
4.	»	+ 0,5 »	behandelter Exsudatfl. . .	29
5.	»	+ 0,5 »	Normalserum	0
6.	»	+ 0,5 »	beh. Normalserum . . .	0
7.	»	+ 0,5 »	Kochsalzlösung	336
8.	»	+ 0,5 »	beh. Kochsalzlösung . .	212.

Die entsprechenden Versuchsflüssigkeiten ohne Zellen ergaben über 50000 Kolonien; nur die normale Exsudatflüssigkeit zeigte, wie dies bisweilen, aber ohne Regelmäfsigkeit vorkommt, starke Abtötung bis zu 27 Kolonien, während die Keimzahl der gleichen, mit toten Bazillen behandelten Flüssigkeit 32000 betrug. Dieser Befund, dafs eine an sich milzbrandtötende Körperflüssigkeit durch Bazillensubstanz unwirksam wird, gleichwohl aber mit Zellen zusammen die stärksten bakteriziden Effekte auslöst, wurde öfters erhoben, konnte aber wegen mangelnder Konstanz nicht genauer studiert werden.

Die Bazilleneinsaat (verdünntes Peritonealexsudat) betrug 11200, in 0,5 ccm Milzbrandserum und Exsudat waren 40 und 460 Keime enthalten, die anderen Flüssigkeiten waren steril.

Tabelle 4.

Meerschweinchen 1 liefert Serum und Zellen; überdies wird das Ödem eines subkutan geimpften, mit schwerer Sepsis verbluteten Meerschweinchens 2 verwendet. Tierische Bazillen stammen aus dem Peritonealexsudate eines ip. geimpften Tieres 3; dieselben wurden in der gewöhnlichen Weise isoliert, in 2 Teilen gewaschen und bei 75° abgetötet. Mit je 1 ccm Normalserum und Kochsalzlösung blieben sie 1 Stunde bei 40° und wurden dann abzentrifugiert.

Das Milzbrandödem war steril, im Milzbrandserum waren noch 227 Keime zurückgeblieben; die Einsaat mit verdünntem Blute des Tieres 2 betrug 1776 Bazillen.

				Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,5 ccm	Milzbrandserum	9000
2.	»	+ 0,5 »	Milzbrandödem	9300
3.	»	+ 0,5 »	Normalserum	140
4.	»	+ 0,5 »	beh. Normalserum	200
5.	»	+ 0,5 »	Kochsalzlösung	120
6.	»	+ 0,5 »	beh. Kochsalzlösung	140
7.	0,5 ccm		Milzbrandserum	ca. 10000
8.	0.5 »		Milzbrandödem	» 10000
9.	0,5 »		Normalserum	180
10.	0,5 »		beh. Normalserum	2600
11.	0,5 »		Kochsalzlösung	2400
12.	0,5 »		beh. Kochsalzlösung	ca. 10000.

Der Versuch ist, abgesehen davon, dafs er das gleiche Resultat zeigt wie der vorhergehende, wegen der aufserordentlichen Seltenheit aufgenommen, dafs ein normales Meerschweinchenserum eine starke Bakterizidie für Milzbrand zeigt.

Tabelle 5.

Anordnung wie in den obigen Versuchen.

				Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,5 ccm	Milzbrandserum	9200
2.	»	+ 0,5 »	Milzbrandexsudat	über 10000
3.	»	+ 0,5 »	Normalserum	0
4.	»	+ 0,5 »	beh. Normalserum	3200

Die entsprechenden Flüssigkeiten ohne Zellen ergaben 10000—20000 Kolonien; das Milzbrandserum enthielt ca. 800, das Exsudat 2000 Keime, die Einsaat betrug 7400 Tierbazillen.

Tabelle 6.

Anordnung wie in den obigen Versuchen.

				Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,5 ccm	Milzbrandserum	ca. 15000
2.	»	+ 0,5 »	Normalserum	1328
3.	»	+ 0,5 »	beh. Normalserum	4368
4.	»	+ 0,5 »	Milzbrandpleuraexsudat	ca. 10000
5.	»	+ 0,5 »	Milzbrandperitonealexsudat	über 10000

Die zellfreien Versuchsflüssigkeiten lieferten ungehemmte Vermehrung. In je 0,5 ccm von Milzbrandserum, Pleura und Peritonealexsudat waren enthalten: 72, 0 und 61 Bazillen, die Einsaat betrug 7000 Tierbazillen.

Allzuviel wird man bei vorsichtiger Beurteilung aus diesen Versuchen nicht schliefsen können. Weitere klarstellende Experimente in dieser Richtung unterblieben, weil sich die Frage, ob die Einwirkung von Bazillensubstanz auf die Körperflüssigkeiten deren fehlende Bakterizidie mit Leukozyten erklären kann,

auf andere Weise entscheiden liefs. Setzt man nämlich einer wirksamen Mischung von Zellen und Serum eines normalen Meerschweinchens die Körperflüssigkeiten eines infizierten zu, so hört die sonst mögliche Bakterizidie mehr oder weniger vollständig auf. Extrakte tierischer Milzbrandbazillen oder Körperflüssigkeiten, die mit solchen behandelt sind, haben diese Fähigkeit nicht oder nur in ganz geringem Grade.

Tabelle 7.

Analog den früher angeführten Versuchen angestellt. Die aus dem gesamten, sehr reichlichen Exsudate isolierten Bazillen wurden eine Stunde lang bei 60° erhitzt und damit 4 ccm normale Exsudatflüssigkeit behandelt. Ebensoviel Exsudatflüssigkeit blieb ohne Bazillen, als Kontrolle. Nach dem Zentrifugieren wurden diese Flüssigkeiten gleichzeitig mit dem zentrifugierten Milzbrandexsudate 1/2 Stunde auf 56° erwärmt. Sämtliche Versuchsflüssigkeiten waren danach steril. Einsaat = 12000 Bazillen aus Peritonealexsudate.

					Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,9	ccm	Normalexudatfl. aktiv . . .	
		+ 0,1	»	Milzbrandexsudat 56° . .	7000
2.	»	+ 0,9	»	Normalexudatfl. aktiv . .	
		+ 0,1	»	beh. Exsudatfl. 56° . . .	3600
3.	»	+ 0,9	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,1	»	Kontrollexsudatfl. 56° . . .	4200
4.	»	+ 0,75	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,25	»	Milzbrandexsudat 56° . . .	9500
5.	»	+ 0,75	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,25	»	beh. Exsudatfl. 56°	3200
6.	»	+ 0,75	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,25	»	Kontrollexsudatfl. 56° . .	2700
7.	»	+ 0,5	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,5	»	Milzbrandexsudat 56° . .	8700
8.	»	+ 0,5	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,5	»	beh. Exsudatfl. 56° . . .	3800
9.	»	+ 0,5	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	
		+ 0,5	»	Kontrollexsudatfl. 56° . .	3500
10.	»	+ 1	»	Normalexsudatfl. aktiv . .	3000
11.	»	+ 1	»	Milzbrandexsudatfl. 56° . .	über 10000
12.	»	+ 1	»	beh. Exsudatfl. 56° . . .	5400
13.	»	+ 1	»	Kontrollexsudatfl. 56° . .	2600

Die Versuchsflüssigkeiten ohne Zellen liefsen ungehinderte Vermehrung zu.

Tabelle 8.

Meerschweinchen 1 wird nach vorangegangener Injektion von 20 ccm Bouillon verblutet und liefert steriles Exsudat und Serum. Meerschweinchen 2 ip., mit Milzbrand infiziert hat typisches Exsudat, aus dem die Bazillen

isoliert, gewasschen und in 0,5 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde auf 60° erhitzt werden. Zugesetzt werden 4 ccm aktiver Exsudatflüssigkeit; nach einstündiger Behandlung bei 37° werden die Bazillen abzentrifugiert und die Flüssigkeit gleichzeitig mit einer ganz entsprechend hergestellten, aber ohne Bazillen belassenen Kontrolle, sowie dem sorgfältig zentrifugierten Milzbrandexsudate ½ Stunde auf 56° erhitzt. Alle Versuchsflüssigkeiten sind danach steril. Meerschweinchen 3 ip. reichlich mit Cholerakultur infiziert, stirbt nach ca. 9 Stunden und liefert ca. 6,5 ccm sehr vibrionenreichen Exsudates, das ebenfalls zentrifugiert und ½ Stunde auf 56° erhitzt wird. Einsaat 15000 Bazillen aus Peritonealexsudat.

	Nach 4 Stunden:
1. Leukozyten + 0,4 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm Milzbrandexsudat	über 10000
2. Leukozyten + 0,4 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm beh Exsudatfl.	4000
3. Leukozyten + 0,4 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm Kontrollexsudatfl.	1454
4. Leukozyten + 0,4 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm Choleraexsudat	2400
5. Leukozyten + 0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,25 ccm Milzbrandexsudat	18000
6. Leukozyten + 0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,25 ccm beh. Exsudatfl.	4000
7. Leukozyten + 0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,25 ccm Kontrollexudatfl.	820
8. Leukozyten + 0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,25 ccm Choleraexsudatfl.	2840
9. Leukozyten + 1 ccm Milzbrandexsudat	25000
10. » + 1 » beh. Exsudatfl.	6000
11. » + 1 » Kontrollexsudatfl.	86
12. » + 1 » Choleraexsudat	2400

Zellen in Meerschweinchenserum ohne sonstigen Zusatz töteten bis auf 3 Keime ab, die Versuchsflüssigkeiteu ohne Zellen ergaben ungehemmte Vermehrung.

Tabelle 9.

Ganz analog dem vorigen, mit anderen Milzbrand und Choleraexsudaten angestellte Versuch. Alle Versuchsflüssigkeiten nach Zentrifugieren und ½ stündiger Erwärmung auf 56° steril. Einsaat 19000 Bazillen aus Milzbrandperitonealexsudat.

						Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	+ 0,1 ccm	Milzbrandexsudat	10200
2.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	beh. Exsudatfl. .	1392
3.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Kontrollexsudatfl.	1184
4.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Choleraexsudat .	1548
5.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Milzbrandexsudat	12000
6.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	beh. Exsudatfl. .	3248
7.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Kontrollexsudatfl.	1696

				Nach 4 Stunden:
8.	Leukozyten	+ 0,25 ccm	Normalserum + 0,25 ccm Choleraexsudat	1728
9.	›	+ 0.5 ›	Milzbrandexsudat	16000
10.	›	+ 0,5 ›	beh. Exsudatfl.	5400
11.	›	+ 0,5 ›	Kontrollexsudatfl.	1632
12.	›	+ 0,5 ›	Choleraexsudat	176

Die Versuchsflüssigkeiten ohne Zellen ergaben ungehemmte Vermehrung.

Tabelle 10.

Analog dem vorigen Versuche mit den zentrifugierten Exsudaten eines mit Milzbrand und eines mit Typhus ip. infizierten Meerschweinchens. 3 ccm normaler Exsudatflüssigkeit eines am Vortage verwendeten Tieres wurden mit der gesamten Bazillenmenge aus dem Exsudate eines ebenfalls am Vortage gebrauchten Milzbrandmeerschweinchens durch 20 Stunden bei Zimmertemperatur behandelt, dann gleichzeitig mit einer ohne Bazillen belassenen Kontrolle zentrifugiert und schliefslich zusammen mit den Milzbrand- und Typhusexsudaten $1/2$ Stunde auf 56° erwärmt. Alle Flüssigkeiten erwiesen sich als steril. Einsaat = 12000 Tierbazillen.

						Nach 4 Stunden:
1.	Leukozyten	+ 0,35 ccm	Normalserum	+ 0,15 ccm	Milzbrandexsudat	2128
2.	›	+ 0,35 ›	›	+ 0,15 ›	beh. Exsudatfl.	20
3.	›	+ 0,35 ›	›	+ 0,15 ›	Kontrollexsudatfl.	21
4.	›	+ 0,35 ›	›	+ 0,15 ›	Typhusexsudat	1440
5.	›	+ 0,5 ›	Milzbrandexsudat			5600
6.	›	+ 0,5 ›	beh. Exsudatfl.			1792
7.	›	+ 0,5 ›	Kontrollexsudatfl.			7
8.	›	+ 0,5 ›	Typhusexsudat			1136

Die Versuchsflüssigkeiten ohne Zellen ergaben überall Vermehrung.

Tabelle 11.

Die gesamten Bazillen aus dem Exsudate eines einer ip. Milzbrandinfektion erlegenen Meerschweinchens wurden in 0,5 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde auf 65° erhitzt, sodann mit 4 ccm normaler Exsudatflüssigkeit 24 Stunden bei 37° gehalten und dann abzentrifugiert; eine in gleicher Weise hergestellte, aber ohne Bazillen belassene Probe diente als Kontrolle. Die beiden Flüssigkeiten wurden ebenso, wie die zentrifugierten Exsudate eines frischen Milzbrand- und Cholerameerschweinchens vor der Verwendung $1/2$ Stunde auf 56° erwärmt. Alle Flüssigkeiten waren steril; eingesät wurden ca. 10000 Tierbazillen.

1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	0,1 ccm	Milzbrandexsudat	5632
2.	›	+ 0,4 ›	›	0,1 ›	beh. Exsudatfl.	1264
3.	›	+ 0,4 ›	›	0,1 ›	Kontrollexsudatfl.	2048
4.	›	+ 0,4 ›	›	0,1 ›	Choleraexsudat	480
5.	›	+ 0,25 ›	›	0,25 ›	Milzbrandexsudat	10200
6.	›	+ 0,25 ›	›	0,25 ›	beh. Exsudatfl.	3368
7.	›	+ 0,25 ›	›	0,25 ›	Kontrollexsudatfl.	4240

8. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum + 0,25 ccm Choleraexsudat. . 1494
9. » + 0,5 » » 2296

Die Versuchsflüssigkeiten ohne Zellen zeigten Vermehrung.

Tabelle 12.

Zentrifugierte Exsudate je eines ip. geimpften Milzbrand-, Cholera- und Typhusmeerschweinchens, vor der Verwendung 1/2 Stunde auf 56° erhitzt und steril. Einsaat = 10 000 Tierbazillen.

1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	+ 0,1 ccm	Milzbrandexsudat	1632
2.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Choleraexsudat .	19
3.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Typhusexsudat .	7
4.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Normalexsudat .	0
5.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Milzbrandexsudat	8400
6.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Choleraexsudat .	88
7.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Typhusexsudat .	16
8.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Normalexsudat .	54
9.	»	+ 0,5 »	Milzbrandexsudat			13 000
10.	»	+ 0,5 »	Choleraexsudat			7 184
11.	»	+ 0,5 »	Typhusexsudat			18
12.	»	+ 0,5 »	Normalexsudat			152
13.	»	+ 0,5 »	Normalserum aktiv			57

Ohne Zellen erfolgte überall Vermehrung.

Tabelle 13.

Zum Versuche dienen die im Versuch der Tabelle 12 benutzten Typhus- und Choleraexsudate nach 24stündiger Aufbewahrung auf Eis. Die Bazillen des in diesem Versuche benutzten Milzbrandexsudates waren isoliert, 1/2 Stunde bei 65° erhitzt und mit 4 ccm aktiver Exsudatflüssigkeit versetzt worden; so standen sie, mit einer entsprechenden bazillenfreien Kontrolle, 20 Stunden bei 37°, wurden dann abzentrifugiert und gleichzeitig mit dem zentrifugierten Exsudate eines frischen Milzbrandmeerschweinchens 1/2 Stunde auf 56° erhitzt. Sämtliche Flüssigkeiten waren steril. Einsaat = 11 500 Tierbazillen.

1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	+ 0,1 ccm	Milzbrandexsudat	9800
2.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	beh. Exsudatfl. .	2072
3.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Kontrollexsudatfl.	128
4.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Choleraexsudat .	544
5.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Typhusexsudat .	89
6.	»	+ 0,4 »	»	+ 0,1 »	Normalexsudatfl. .	1 368
7.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Milzbrandexsudat	12 600
8.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	beh. Exsudatfl. .	6 400
9.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Kontrollexsudatfl.	218
10.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Choleraexsudat .	4 240
11.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Typhusexsudat .	312
12.	»	+ 0,25 »	»	+ 0,25 »	Normalexsudatfl. .	720
13.	»	+ 0,5 »	Milzbrandexsudat			über 20 000

14.	Leukozyten	+ 0,5 ccm	beh. Exsudatflüssigkeit	2888
15.	›	+ 0,5 ›	Kontrollexsudatflüssigkeit	101
16.	›	+ 0,5 ›	Choleraexsudat	9560
17.	›	+ 0,5 ›	Typhusexsudat	89
18.	›	+ 0,5 ›	Normalexsudatflüssigkeit	824

Ohne Zellen trat in allen Versuchsflüssigkeiten ungehemmte Vermehrung ein.

Tabelle 14.

Versuch mit einem anderen Milzbrandstamme: ›Buchner‹. Die Bazillen aus dem Exsudate des damit ip. infizierten Meerschweinchens wurden isoliert, in 2 Teilen gewaschen und $^3/_4$ Stunden auf 75° erhitzt. Damit wurden hergestellt:

I. Bazillen in 1 ccm NaCl + 1,5 ccm Meerschweinchenserum,
II. › 0 + 1,5 › ›
III. › › 1 › › + 1,5 › Meerschweinchenexsudatflüssigkeit,
IV. › 0 + 1,5 › › ›

Nach 1stündigem Aufenthalte bei 37° wurden die Proben zentrifugiert und gleichzeitig mit dem Serum und dem Peritonealexsudate des milzbrandigen Meerschweinchens $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

1.	Leukozyten	+0,45 ccm	Normalserum	+0,05 ccm	Milzbrandexsudat	9 200
2.	›	+0,45 ›	›	+0,05 ›	Milzbrandserum .	11 300
3.	›	+0,45 ›	›	+0,05 ›	I	1 760
4.	›	+0,45 ›	›	+0,05 ›	II	1 128
5.	›	+0,45 ›	›	+0,05 ›	III	1 456
6.	›	+0,45 ›	›	+0,05 ›	IV	1 040
7.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	Milzbrandexsudat	20 000
8.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	Milzbrandserum .	20 000
9.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	I	1 248
10.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	II	1 272
11.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	III	1 256
12.	›	+0,4 ›	›	+0,1 ›	IV	584
13.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	Milzbrandexsudat	40 000
14.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	Milzbrandserum .	40 000
15.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	I	2 944
16.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	II	1 360
17.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	III	3 856
18.	›	+0,25 ›	›	+0,25 ›	IV	728
19.	›	+0,5 ›	Normalserum . .		. . . .	1 440

Tabelle 15.

Die gesamten Bazillen aus gut 10 ccm Exsudat eines Milzbrandtieres wurden isoliert, gewaschen, in 0,25 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Stunde auf 75° erhitzt und damit hergestellt:

I. Bazillen in 0,25 ccm NaCl-Lösung + 2,5 ccm Normalexsudatflüssigkeit,
II. 0 › 0,25 › › + 2,5 › ›

Nach $^1/_2$stündigem Aufenthalt bei 37° wurden die Proben sorgfältig zentrifugiert und gleichzeitig mit dem Milzbrandexsudate $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt; es war vollkommene Sterilität eingetreten. Zur Einsaat wurden 9800 Bazillen aus dem Peritonealexsudate verwendet.

							nach 4 Stunden
1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	+ 0,1 ccm	Milzbrandexsudat		14 000
2.	›	+ 0,4 ›	›	+ 0,1 ›	I		2 848
3.	›	+ 0,4 ›	›	+ 0,1 ›	II		2 160
4.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	Milzbrandexsudat		20 000
5.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	I		6 900
6.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	II		3 048
7.	›	+ 0,5 ›	Milzbrandexsudat				12 300
8.	›	+ 0,5 ›	I				30 000
9.	›	+ 0,5 ›	II				3 264
10.	›	+ 0,5 ›	Normalserum				3 712

In den Proben ohne Zellen erfolgte ungehemmte Vermehrung.

Tabelle 16.

Außer dem Exsudate eines Milzbrandmeerschweinchens werden noch Extrakte aus der gesamten Bazillenmenge des gleichen Exsudates sowie aus der Bakterienmasse von 5 jungen Agarkulturen angefertigt:

I. Tierbazillen in 0,25 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Std. 70° + 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit.

II. Kulturbazillen in 0,25 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Std. 70° + 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit.

III. 0 in 0,25 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Std. 70° + 3 ccm Normalexsudatfl.

Nach 1stündigem Aufenthalte bei 37° werden die Proben zentrifugiert und mit dem Milzbrandexsudate gleichzeitig $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt. Einsaat = 7120 Tierbazillen.

1.	Leukozyten	+ 0,4 ccm	Normalserum	+ 0,1 ccm	Milzbrandexsudat	1032
2.	›	+ 0,4 ›	›	+ 0,1 ›	I	95
3.	›	+ 0,4 ›	›	+ 0,1 ›	II	12
4.	›	+ 0,4 ›	›	+ 0,1 ›	III	31
5.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	Milzbrandexsudat	2544
6.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	I	136
7.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0.25 ›	II	80
8.	›	+ 0,25 ›	›	+ 0,25 ›	III	6
9.	„	+ 0,5 ›	›	. . . .		72

Alle Proben ohne Zellen ergaben ungestörte Vermehrung.

Die in größerer Zahl aufgenommenen Versuche sollen selbst ein Urteil über die herrschenden Verhältnisse zulassen. Ohne Ausnahme können die Körperflüssigkeiten infizierter Tiere, aus denen die lebenden Milzbrandbazillen durch Zentrifugieren und vorsichtige Erwärmung entfernt sind, die sonst sehr lebhafte

Bakterizidie einer Mischung normaler Leukozyten mit aktivem Serum von Meerschweinchen beeinträchtigen oder aufheben. Das danach erfolgende Wachstum der eingesäten Milzbrandbazillen ist allerdings noch kein absolut ungehemmtes: stets ist noch eine gewisse Verzögerung gegenüber den gleichen, aber ohne Zellen belassenen Proben zu konstatieren, aber die Begünstigung der Entwicklung tritt unzweideutig hervor.

Durch Behandlung normaler Meerschweinchenflüssigkeiten mit toten Bazillen, die im Körper infizierter Tiere gewachsen waren, läfst sich das gleiche Resultat gar nicht oder nur mangelhaft erzielen. Dabei ist zu berücksichtigen, dafs die Menge toter Bakterien, welche zu Behandlung genommen wurde, immer viel gröfser war als die der ursprünglich in den Körperflüssigkeiten vorhandenen. Die besondere Wirkung milzbrandiger Exsudate mufs durch das in ihnen erfolgte Wachstum der Bazillen zustande gekommen sein und läfst sich nicht vollständig durch die blofse Einwirkung der gebildeten Bazillensubstanz erklären. Ganz ohne jeden Effekt kann diese natürlich nicht sein, da Weil festgestellt hat, dafs man eine aktive Körperflüssigkeit, welche mit Leukozyten zusammen stark bakterizid ist, durch Bazillenbehandlung unwirksam machen kann. Die gleiche Wirkung kann aber auch der gelösten Bazillensubstanz zukommen, die in künstliche Extrakt übergeht.

Diese Wirkung ist nicht spezifisch, d. h. man kann ein Meerschweinchenserum, das mit Zellen zusammen Heubazillen abtötet, nicht nur durch Behandlung mit Subtilis, sondern auch durch eine solche mit grofsen Mengen von Typhus- oder Cholerabazillen unwirksam machen. In der vorstehenden Tabellenreihe sind nun auch eine Anzahl Versuche aufgenommen, bei denen der wirksamen Serum-Leukozytenmischung Exudate von typhus- oder cholerainfizierten Tieren zugesetzt wurden. Man kann sofort erkennen, dafs diese Exsudate, obwohl sie von den zugehörigen Bazillen ursprünglich ganz erfüllt waren, nicht entfernt die hemmende Wirkung auf die Bakterizidie von Serum-Zellmischungen ausüben wie Milzbrandexsudate, wenn auch eine geringe Beeinflussung noch zu erkennen ist. Dies rührt wohl

daher, daſs unser Milzbrandstamm der Mitwirkung des Serums meist nicht bedarf. Daraus ergibt sich der Schluſs, daſs die eigenartige Wirkung, welche Körperflüssigkeiten milzbrandiger Tiere im Sinne einer Hemmung der Leukozytenbakterizidie im Reagenzglase ausüben eine spezifische ist.

Das lieſs sich am einleuchtendsten an Versuchen mit Bacillus subtilis zeigen. Weil hat gezeigt, daſs gewisse Stämme dieses Bazillus sehr wohl imstande sind pathogen auf Mäuse und Meerschweinchen zu wirken. Der von uns benutzte Stamm tötete Meerschweinchen von ca. 200 g Gewicht in wenigen Stunden bei intraperitonealer Injektion von einer ganz jungen, noch sporenfreien Agarkultur, unter den Symptomen schwerster Peritonitis, mit Bildung reichlichen, sehr bazillenreichen Exsudates, welches sich durch Zentrifugieren fast ganz von den Bazillen befreien lieſs; die noch darin vorhandenen wurden durch $^1/_2$ stündige Erwärmung auf 56° sicher vernichtet. Der Bacillus subtilis war namentlich deshalb zu Versuchen sehr geeignet, weil er sich physiologisch dem Milzbrandbazillus sehr ähnlich verhält, d. h. ebenso wie dieser in einer Mischung normaler Leukozyten mit Serum von Meerschweinchen sehr stark angegriffen wird. Es war dadurch möglich, nicht nur den Effekt eines Zusatzes von Subtilisexsudat auf die Bakterizidie von Milzbrandbazillen, sondern auch umgekehrt die Beeinflussung von Subtilisbakterien in Serumzellmischungen bei Zusatz von Milzbrandexsudaten zu studieren.

Tabelle 17.

Verwendet werden die Leukozyten, die Exsudatflüssigkeit und das Serum eines normalen Meerschweinchens und das zentrifugierte, $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzte Exsudat eines Milzbrandtieres

	4 Stunden nach Einsaat von a) 11000 Tiermilzbrand	b) 18000 Subtilis
1. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56°	3700	176
2. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Normalexsudatfl. $^1/_2$ Stunde 56°	0	68
3. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56°	7600	352
4. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Normalexsudatfl. $^1/_2$ Stunde 56°	0	13

	4 Stunden nach Einsaat von a) 11000 Tiermilzbrand	b) 13000 Subtilis
5. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat .	7600	2900
6. » + 0,5 » Normalexsudatfl. .	532	3800
7. » + 0,5 » Meerschweinchen-serum aktiv . . .	208	76

Tabelle 18.

Zur Verwendung kommen die Exsudate zweier Meerschweinchen, von denen das eine mit Milzbrand, das andere mit Typhus intraperitoneal infiziert war; die Exsudate sind zentrifugiert und $^1/_2$ Stunde auf 58° erhitzt.

	4 Stunden nach Einsaat von a) 6900 Tiermilzbrand	b) 5300 Subtiliskultur
1. Leukozyten + 0,5 Normalexsudatfl. aktiv + 0,2 ccm Milzbrandexsudat 56°	2040	304
2. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudatfl. aktiv + 0,2 ccm Typhusexsudat 56°	408	240
3. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudatfl. aktiv + 0,2 ccm Normalexsudatfl. 58°	552	312
4. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat 58°	4560	4600
5. » + 0,5 » Typhusexsudat 58° .	1744	3448
6. » + 0,5 » Normalexsudatfl. 58°	1152	1840
7. » + 0,5 » » aktiv		
8. » + 0,2 ccm NaCl	544	192

Tabelle 19.

Zur Verwendung kommen die zentrifugierten und $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmten Exsudate zweier Meerschweinchen, von denen das eine mit Milzbrand, das andere mit Bac. subtilis infiziert war. Das mit schwerer Sepsis verblutete Milzbrandtier lieferte auch noch Serum und Pleuraexsudat. Zur Einsaat wurden die aus den Peritonealexsudaten gewonnenen Milzbrand und Subtilisbazillen verwendet.

	4 Stunden nach Einsaat von a) 9700 Tiermilzbrand	b) 11000 Subtilis
1. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat 56° . . .	10800	752
2. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Subtilisexsudat 56°	4128	11800
3. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandpleuraexsudat 56° .	11000	—
4. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandserum 56°	7840	—
5. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Normalexsudatfl. 56° . . .	4960	1232
6. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat 56° . . .	14000	1728

	4 Stunden nach Einsaat von a) 9700 Tiermilzbrand	b) 11000 Subtilis
7. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Subtilisexsudat 56°	4640	14000
8. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandpleuraexsudat 56°.	11300	—
9. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandserum 56° . . .	14200	—
10. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Normalexsudatfl. 26° . . .	5288	992
11. Leukozyten + 0,5 ccm Normalserum aktiv	4768	768

Alle Proben ohne Zellen ergaben ungehemmte Vermehrung.

Berücksichtigt man die verschiedene Widerstandskraft, welche die verschiedenen Bazillenarten gegenüber Zellen und Säften aufweisen, so kann an der Spezifität der Exsudatwirkung nicht gezweifelt werden. Man sieht in der letzten Tabelle ganz deutlich, wie jedes Exsudat nur für denjenigen Bazillus im Sinne der Beseitigung einer sonst möglichen Abtötung wirkt, von dem es ursprünglich erzeugt worden ist. Leider ist es nicht möglich, einen solchen Beweis für alle Bakterien zu führen, da er nur dann gelingen kann, wenn auch der zum Vergleich herangezogene Bazillus die gleichen Verhältnisse bei der Serum-Zellbakterizidie wie der Milzbrandbazillus aufweist, was nur in Einzelfällen zutrifft; die grofse Zahl derjenigen Mikroorganismen, welche, wie z. B. der Choleravibrio, bereits durch Serum allein abgetötet werden, ist dafür nicht geeignet.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dafs diese Versuche zur Aufklärung des Zustandekommens einer Infektion von Bedeutung sind. Im besonderen trifft dies für die intaperitoneale Milzbrandinfektion der Meerschweinchen zu, deren Besonderheiten bereits oben erwähnt wurden. Ob man Kulturbazillen oder kapseltragende, tierische injiziert, stets findet in der ersten Zeit eine auch schon mikroskopisch erkennbare Degeneration derselben statt, die schliefslich zu einer, eine gewisse Zeit lang anhaltenden Sterilität der Bauchhöhle führt. Das kann auf nichts anderes als auf das Wirken keimfeindlicher Kräfte bezogen werden, die sich ja in der kombinierten Wirkung von Leukozyten und Serum auch im Ragenzglase sichtlich machen lassen. Wenn nun einige Zeit später wieder Bazillen in der

Bauchhöhle erscheinen und sich ohne jede Beeinträchtigung vermehren, ohne dafs dieselben, wie alle Versuche zeigen, widerstandsfähig gegen die gleichen Leukozyten-Serumwirkungen geworden wären, so bleibt nur die Annahme übrig, dafs sich die Verhältnisse in der Bauchhöhle geändert haben müssen. Obwohl sich die angesammelten Leukozyten an Zahl noch vermehrt haben und auch die genaueste Untersuchung keine Zeichen von Zerfall derselben ergiebt, obwohl man jederzeit durch Injektion frischer Kulturmilzbrandbazillen zeigen kann, dafs sie noch durchaus imstande sind, ihre phagozytäre Tätigkeit aufzunehmen, werden doch die zunächst nur in ganz geringer Zahl neuauftretenden Bazillen nicht mehr angegriffen. Es fehlt also jetzt die milzbrandfeindliche Aktion, die dem normalen Tiere so deutlich zukommt und die angeführten Versuche geben darüber Aufschlufs. Denn alle Körperflüssigkeiten infizierter Tiere besitzen die Fähigkeit, eine sonst mögliche, von Serum und Leukozyten ausgehende Milzbrandbakterizidie zu vermindern oder aufzuheben. Dafs diese eine Folge der Infektion sein mufs, dafs die Milzbrandbazillen imstande sein müssen, selbsttätig jenes Agens hervorzubringen, welches die Besonderheit der Säfte infizierter Tiere ausmacht, unterliegt von vornherein keinem Zweifel. Man kann sich an der Hand der Beobachtungen im Tierkörper und im Reagenzglase folgende Vorstellung des Infektionsverlaufes machen. Die injizierten Bazillen erfahren im Körper des Meerschweinchens einen Widerstand, welcher sich in einem Zugrundegehen eines Teiles derselben äufsert, während die überlebenden in Körperstellen flüchten müssen, welche nicht so wie die Bauchhöhle günstige Bedingungen zur Entfaltung der keimfeindlichen Aktionen bieten. Man kann sich leicht überzeugen, dafs Milz, Knochenmark, öfters auch Leber und Netz die Orte sind, an denen sich die aus der Bauchhöhle verschwundenen Bazillen wiederfinden lassen. An diesen Stellen findet dann bei Injektion von Kulturbazillen auch die Umwandlung in die kapseltragende, tierische Form statt und darauf die Vermehrung, so dafs die Bauchhöhle gar nie die erste Ansiedlungsstelle bildet, es wäre denn, dafs man exzessiv hohe Dosen von Milzbrand

injizieren würde. Bei der Vermehrung des Bazillus in seiner tierischen Form findet aber auch jene eigentümliche Veränderung der Körpersäfte statt, vermöge deren sie zunächst die Fähigkeit verlieren, mit Zellen zusammen Milzbrandbazillen abtöten zu können, später aber sogar selbst die Eigenschaft annehmen, eine sonst stark bakterizide Mischung normaler Leukozyten mit Serum in ihrer milzbrandfeindlichen Wirkung abzuschwächen oder ganz zu paralysieren.

Die Ursache dieser Umwandlung der Körpersäfte kann in nichts anderem wie in dem Wachstum der Bazillen selbst gesucht werden und läſst sich am leichtesten verstehen, wenn man annimmt, daſs der Bazillus bei seinem Wachstum im Organismus zur Ausscheidung abnormer Sekretionsprodukte veranlaſst wird, welche er in seinem gewöhnlichen saprophytischen Zustande nicht bildet. Ein solches Sekretionsprodukt ist die Substanz, welche als Kapsel mikroskopisch sichtbar wird, ein anderes ist nur physiologisch in seiner Wirkung gegenüber den milzbrandfeindlichen Körperkräften nachzuweisen. Es bildet sich überall dort, wo eine Vermehrung im Tiere stattfindet und geht in die Körperflüssigkeit über. Ist seine Konzentration in dieser noch eine geringe, so sind die Flüssigkeiten lediglich unfähig, mit Leukozyten zusammen bakterizid zu wirken, wird sie aber stärker, so erlangen sie die Eigenschaft der hemmenden Wirkung auch bei relativ geringem Zusatze zu sonst stark bakteriziden Serum-Zellmischungen. Daraus folgt, daſs die an irgendeiner Körperstelle eines empfindlichen Tieres stattfindende Milzbrandvermehrung die Bedingungen zu einer Ausbreitung der Bazillen von selbst schafft. Bei einer solchen findet die Paralysierung der keimfeindlichen Kräfte durch die erwähnten Bazillensekrete zunächst in kleinem Umkreise statt; da diese aber beständig vermehrt werden, wird der Umkreis, innerhalb dessen der Organismus wehrlos ist, immer gröſser, damit auch die Vermehrung des Bazillus und die Sekretion weiterer Stoffwechselprodukte immer stärker. Gehen diese aber in erheblicher Menge in den Kreislauf über, so wird die Schwächung von Schutzkräften auch in Körpergebieten eintreten, in welchen Bazillen selbst noch gar

nicht vorgedrungen sind und der Bazillus bereitet sich seine schliefsliche Ausbreitung durch eine Fernwirkung seiner Produkte in wirksamster Weise vor. Schliefslich vermag er auch an den Orten, welche die günstigste Entfaltung der Schutzkräfte zulassen und in denen er ursprünglich, wie in der leukozyten erfüllten Bauchhöhle gar nicht zur Entwicklung kommen konnte, ungestört zu wachsen. Der Organismus des infizierten Tieres mufs in seinen Teilen wehrlos gemacht sein, ehe die Infektion sich ausbreiten kann und die Mittel, deren sich der Bazillus zu diesem Zwecke bedient, gehören zu seiner Aggressivität. Es ist bereits angedeutet worden, dafs der aggressive Zustand des Bazillus durch das Eintreten abnormer Sekretionen seitens desselben charakterisiert wird. Durch diese wird die Kapsel des tierischen Bazillus gebildet, deren unmittelbare Bedeutung zwar noch nicht bestimmt werden kann, die aber jedenfalls mit der Phagozytoseresistenz zusammenhängt, welche die Tierbazillen zeigen. Dadurch schützt sich der Bazillus gegen den direkten Angriff der Zellen; den indirekt keimfeindlichen Eigenschaften derselben, die sich erst als Bakterizidie von Zell-Serummischungen äufsern bleibt er an sich stets unterworfen und würde wie der anfängliche Verlauf einer mit einer mäfsigen Zahl von Tierbazillen ausgeführten intraperitonealen Infektion zeigt, auch unterliegen, wenn nicht die anderen löslichen Sekrete, die er bildet, in die Körpersäfte übergehen und deren sonst mögliche Aktivität, mit Leukozyten zusammen Bazillen abzutöten, paralysieren würden. Diese Sekrete haben also unmittelbar den Charakter von Aggressinen des Milzbrandbazillus. Sie ermöglichen die Verbreitung der Infektion in alle Teile des Organismus, die erst erfolgen kann, wenn durch die Aggressine die Lähmung der Schutzkräfte eingetreten ist. Ihre Bildung aber geht vom Orte der ersten Vermehrung, der bei der intraperitonealen Infektion mit der Injektionsstelle nicht identisch ist, aus.

Es ist für das Verständnis der Infektion unerläfslich, sich eine ganz allgemeine Vorstellung über die gegenseitige Einwirkung des Tierkörpers (des Makroorganismus) und des infizierenden Bazillus (des Mikroorganismus) zu bilden. Die Infektion ist bio-

logisch ein ungewöhnliches Ereignis, bei dem der eine, der Mikroorganismus innerhalb des Funktionsbereiches eines zweiten, des Makroorganismus lebt. Der letztere entfaltet also die zu seinem Leben erforderlichen Funktionen innerhalb des gleichen Raumes, der bereits von den Funktionen des Makroorganismus erfüllt ist; das ist aber ohne eine gegenseitige Störung der Funktionen beider Organismen nicht denkbar. Um dies zu versinnlichen, stelle man sich jeden Organismus als einen Kreis vor, der von eigenartigen Funktionen ganz erfüllt ist: mindestens dort, wo die beiden Kreise, die bei der Infektion ineinander fallen, sich decken, mufs eine Störung des normalen Funktionsablaufes für beide Organismen sich ergeben. Eine solche Störung bedeutet aber den Eintritt eines abnormen, eines Krankheitszustandes. Für den Makroorganismus entsteht die Infektionskrankheit zu einem Teile, aber auch der Bazillus mufs Abnormitäten seines normalen Zustandes, die man als Krankheitserscheinungen bezeichnen kann, aufweisen. Als normaler Zustand eines Bazillus mufs selbstverständlich der saprophytische angesehen werden, aus dem ja erst sekundär der parasitische hervorgegangen sein kann und zu welchem er bei Kulturversuchen sofort zurückkehrt. Was ihn davon während einer Infektion unterscheidet, mufs als Krankheitserscheinung oder, wenn man diesen Ausdruck verzeiht, als Reaktion auf den vom Makroorganismus ausgeübten Reiz bezeichnet werden. Daraus folgt sofort, dafs jeder infizierende Bazillus etwas anderes sein mufs, als ein saprophytisch kultivierter. Denn diese Überlegung gilt natürlich für alle bakteriellen Infektionen überhaupt. Bei einer Anzahl derselben hat man bereits morphologische und physiologische Veränderungen während einer Infektion ermitteln können; man wird auch dort, wo solches bisher nicht bekannt ist, danach zu suchen haben. Der Milzbrandbazillus bietet sie vielleicht im höchsten und daher am leichtesten zu erkennenden Grade dar.

Beim Milzbrandbazillus läfst sich nun erkennen, wie verhängnisvoll die Annahme des tierischen Zustandes für das infizierte Tier wird. Denn die abnormen Sekretionen, welche sichtlich den Ausdruck des krankhaften oder gereizten Zustandes

bilden sind gleichzeitig solche, welche das Zustandekommen der Infektionen erleichtern. Sie machen den Bazillus widerstandsfähig gegen die direkte und beseitigen in mehr oder minder hohem Grade die indirekte Wirkung der Zellen. Diese beiden Momente bilden aber den Begriff der Bazillenaggressivität, so daſs die Entfaltung aggressiver Eigenschaften die Einwirkung des Makroorganismus auf den Mikroorganismus zur Voraussetzung hat. Aggressivität und Leben des Milzbrandbazillus im Tierkörper, also Infektion, stehen somit im denkbar innigsten Zusammenhange.

Eine sehr wichtige Frage ist nun jene nach der Art der Wirkung jener Sekretionsprodukte, welche der Bazillus zur Paralysierung der Zell-Serumbakterizidie ausscheidet. Es wurde bereits unter Anführung von Versuchen hervorgehoben, daſs diese wahrscheinlich nicht einfach mit den Leibesbestandteilen der Bazillen identisch sein können. Bekanntlich haben Wassermann und Citron die Wirkung der bakteriellen Aggressine auf Bakteriensubstanzen zurückgeführt, welche in Lösung übergehen und in diesem Zustande durch Bindung bakteriolytisch tätiger Säftewirkungen infektionserleichternd, d. h. aggressiv wirken. Dementsprechend bezeichneten sie auch Extrakte aus Bakterien als künstliche Agressine.

Es unterliegt keinem Zweifel, daſs man tatsächlich durch Anwendung solcher Bakterienextrakte bei vielen Bakterien, namentlich bei den halbparasitischen die intraperitoneale Meerschweincheninfektion auſserordentlich erleichtern kann. Es ist ebenso zweifellos, daſs die Ursache davon in einer Bindung bakteriolytischer Vorgänge gesucht werden muſs, deren Bedeutung für das Zustandekommen oder Ausbleiben derartiger Infektionen eine groſse ist.

Für jene Bakterien, welche wie der Milzbrandbazillus ihre Gestalt und ihre Eigenschaften während der Infektion so tiefgehend verändern, daſs daraus auch eine Veränderung ihrer Leibesbeschaffenheit gefolgert werden muſs, ergeben sich bei dem Versuche einer Herstellung künstlicher Aggressine von vornherein Schwierigkeiten, da man nicht weiſs, welche Bakterien

man zur Herstellung des künstlichen Aggressins extrahieren soll. Mit Extrakten von Kulturbazillen erhält man weder bei Immunisierungen noch bei bakteriziden Versuchen (Tab. 16) Resultate; Extrakte aus Tierbazillen geben solche auf letzterem Wege gleichfalls nicht, obwohl die theoretische Möglichkeit nicht bestritten werden soll, aus kapselhaltigen Bazillen wirksame Extrakte auf diese oder jene Weise zu gewinnen. Denn Sekretionsprodukte, welche ein Bazillus ausscheidet, müssen ja im Leibe desselben vorgebildet sein und können daher, sobald die geeignete Methode bekannt ist, daraus gewonnen werden.

Es erschien wichtig, die Art der Wirkung von Milzbrandexsudaten auf die Bakterizidie von Zell-Serummischungen festzustellen. Extrakt aus Halbparasiten, wie Typhus- oder Cholerabazillen, wirken zweifellos auf die bakteriolytischen Serumstoffe im Sinne einer direkten Bindung derselben ein. Bei Milzbrand liegen wiederum die Verhältnisse von vornherein komplizierter. Denn da zur Entfaltung der keimtötenden Effekte unbedingt das Zusammenwirken von Körpersäften und Körperzellen erforderlich ist, könnte ihre Beseitigung sowohl durch eine Beeinflussung der ersteren wie der letzteren möglich sein. Bekannt ist in dieser Hinsicht die bereits erwähnte Erscheinung, dafs es durch Behandlung eines Serums mit toten Bazillen in sehr grofser Menge gelingt, seine mit Zellen zusammen auftretende Wirkung aufzuheben.

So dürftig aber auch unsere Kenntnisse über die Details der kombinierten Zell-Serumbakterizidie sein mögen, so ist doch das eine sicher, dafs die Wirkung der Zellen dabei keine rein vitale ist, da oft auch abgetötete Zellen im Serum wirken und man Extrakte in diesem erhalten kann. Es handelt sich also um den Effekt von Stoffen, die aus den Zellen austreten können und die, obwohl schon in indifferenter Lösung einigermafsen wirksam, das Maximum ihrer Leistung erst bei Anwesenheit von Serum entfalten. Es liegt natürlich nahe, zunächst an eine Bindung dieser Zellstoffe zu denken.

Vorher mögen aber noch Versuche erwähnt werden, welche neuerlich auf die tiefgehende Umwandlung hinweisen, die der Milzbrandbazillus bei seinem Übergange aus dem saprophytischen

Kulturzustande in den aggressiven der tierischen Bazillen erfährt. Die Begünstigung durch Milzbrandexsudate kommt nämlich ganz vorwiegend nur den animalisierten, nicht aber den gezüchteten Bakterien zu.

Tabelle 20.

Verwendet wird das Exsudat eines ip. mit Milzbrand infizierten Meerschweinchens, das ebenso wie das eines normalen Bouillontieres zentrifugiert und $^1/_2$ Stunde bei 56° erhitzt wurde. Die normalen, gewaschenen Leukozyten wurden in den Versuchsflüssigkeiten aufgeschwemmt und teils so verwendet, teils vorher dreimal nacheinander in Eis-Kochsalzmischung eingefroren und wieder aufgetaut.

	4 Stunden nach Einsaat von 12000 Tierbazillen	15000 Bouillonbazillen
1. Leukozyten + 0,35 ccm Normalserum aktiv + 0,15 Milzbrandexsudat	15000	ca. 15000
2. Ebenso gefroren	768	› 15000
3. Leukozyten + 0,35 ccm Normalserum aktiv + 0,15 Normalexsudat	5000	900
4. Ebenso gefroren	212	ca. 15000
5. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	25000	› 15000
6. Ebenso gefroren	432	› 15000
7. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudat	900	152
8. Ebenso gefroren	46	› 15000

Die Flüssigkeiten ohne Zellen ergaben überall ungehinderte Vermehrung.

Tabelle 21.

Versuchsanordnung wie im Versuche der Tabelle 20; es wurden aber alle Flüssigkeiten (Serum, normale und Milzbrandexsudatflüssigkeit) vor ihrer Verwendung $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

	4 Stunden nach Einsaat von 10800 Tierbazillen	11000 Bouillonbazillen
1. Leukozyten + 0,35 ccm Normalexsudatfl. 56° + 0,15 ccm Milzbrandexsudat 56°	3600	7300
2. Ebenso gefroren	17	1900
3. Leukozyten + 0,35 ccm Normalserum 56° + 0,15 ccm Milzbrandexudat 56°	3840	8000
4. Ebenso gefroren	40	10200
5. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudat 56°	968	2800
6. Ebenso gefroren	0	1700
7. Leukozyten + 0,5 ccm Normalserum 56°	208	6900
8. Ebenso gefroren	4	8200
9. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudatfl. 56°	10200	5700
10. Ebenso gefroren	56	7000

Die Flüssigkeiten ohne Zellen liefsen überall Vermehrung zu.

Tabelle 22.

Versuch mit dem Milzbrandstamme Gruber. Anordnung wie früher; Serum, Normal- und Milzbrandexsudatflüssigkeit vor der Anwendung 1/2 Stunde auf 56° erhitzt.

	4 Stunden nach Einsaat von 10000 Tierbazillen	6000 Bouillonbazillen
1. Leukozyten + 0,35 ccm Normalserum 56° + 0,15 ccm Milzbrandexsudat 56°	8000	3000
2. Ebenso gefroren	1800	5000
3. Leukozyten + 0,35 ccm Normalserum 56° + 0,15 ccm Normalexsudat 56°	22	480
4. Ebenso gefroren	33	2000
5. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat 56°	10000	690
6. Ebenso gefroren	640	3000
7. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudat 56° .	34	48
8. Ebenso gefroren	13	3
9. Wie 1., ohne Leukozyten	40000	15000
10. Wie 3., » »	15000	3000
11. Wie 5., » »	40000	10000
12. Wie 7., » »	82	600

Tabelle 23.

Versuch mit dem Milzbrandstamme Gruber. Anordnung wie in den früheren Versuchen, aber alle Flüssigkeiten aktiv.

	4 Stunden nach Einsaat von 13000 Tierbazillen	10000 Bouillonbazillen
1. Leukozyten + 0,35 ccm Serum + 0.15 ccm Milzbrandexsudat . .	10000	6000
2. Ebenso gefroren	700	6000
3. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	15000	3000
4. Ebenso gefroren	224	3000
5. Leukozyten + 0,5 ccm Serum . .	2000	3000
6. Ebenso gefroren	24	4000
7. Leukozyten 0,5 ccm NaCl-Lösung	134	121
8. Ebenso gefroren	74	6000

Alle Proben ohne Zellen lieferten Vermehrung; das Milzbrandexsudat war durch bloſses Zentrifugieren steril geworden, eine ohne Einsaat belassene Probe von 0,5 ccm war auch nach 4stündigem Aufenthalte bei 37° keimfrei.

Man ersieht aus diesen Versuchen sogleich, daſs die Paralysierung der Bakteriolyse von Zell-Serummischungen durch Milzbrandexsudate zwar auch für Kulturbazillen bis zu einem gewissen Grade erfolgt, daſs sie aber für Tierbazillen ungleich

deutlicher ist. Daraus folgt, dafs die bereits oben hervorgerufene Spezifität der Milzbrandexsudate sogar für verschiedene Zustände eines und desselben Milzbrandstammes nachweisbar sein kann.

Wichtiger noch ist das gegensätzliche Verhalten von Kultur und Tiermilzbrand in Zell-Serummischungen, in denen die Zellen durch wiederholtes Einfrieren abgetötet und zum Teil extrahiert sind. Nach einer solchen Behandlung wird die Bakterizidie für Tierbazillen ohne Ausnahme verstärkt, und zwar so, dafs der Gehalt an Milzbrandexsudaten, der sonst eine Hemmung der Bakterizidie herbeiführt, nicht mehr zur Geltung kommt. Ja, es gelingt in den meisten Fällen durch Eingefrierenlassen von normalen Leukozyten in reinen Milzbrandexsudaten diese für frisch zugesetzte Tierbazillen stark bakterizid zu machen. Ganz entgegengesetzt verhalten sich Kulturbazillen, für die das Maximum der Wirkung nur bei lebenden Leukozyten erreicht werden kann. Das heifst aber, dafs die Kulturbazillen gegen gelöste Leukozytenstoffe viel widerstandsfähiger sind als tierische, was mit den Anschauungen von Preisz nicht übereinstimmt.

Jedenfalls deuten diese Feststellungen neuerlich und in sehr eindringlicher Weise auf die grofsen Veränderungen hin, welche der Milzbrandbazillus bei seinem Übergange aus der Kultur zum tierischen Zustande annimmt, und die im Verhalten zu Meerschweinchenleukozyten einen sehr eigentümlichen Ausdruck finden. Der Bazillus wird zwar widerstandsfähig gegen die Phagozytose, dafür erlangt er aber eine auffallende Empfindlichkeit gegen die in den Leukozyten enthaltenen bakteriziden Stoffe, sobald diese einmal in Freiheit gesetzt sind, wie dies durch das Eingefrieren geschieht. Ganz im Gegensatze dazu ist der Kulturbazillus zwar der Phagozytose im hohen Grade unterworfen und wird innerhalb der Zellen dem Augenscheine nach stark zur Degeneration gebracht, gegen freie Leukozytenstoffe aber ist er in hohem Grade widerstandsfähig.

Die allgemeine Bedeutung solcher Versuche liegt darin, dafs es für das Studium der bakteriellen Infektion nicht genügt, den Erreger in Reinkultur vor sich zu haben, dafs es auch nicht hinreicht, ihn durch Tierpassagen in »virulentem« Zustande zu

erhalten, sondern dafs er auch in dem Zustande untersucht werden mufs, den er während einer Infektion annimmt, wobei selbstverständlich die Frage übergeordnet bleibt, wieso er in diesen Zustand gelangt. Denn offenbar bestehen zwischen einem Kulturmilzbrande und einem animalisierten nur noch genetisch enge Beziehungen, physiologisch aber, in ihrem Verhalten zum Tierkörper, verhalten sie sich wie zwei ganz fremde Mikroorganismen und auch die Produkte, welche der Tierbazillus erzeugt, sind nur für ihn selbst von Bedeutung, für den Kulturzustand aber ohne direkten Belang. Es ist dann ohne weiteres begreiflich, wenn Effekte, wie sie die Exsudate infizierter Tiere entfalten, nur während einer Infektion sich ausbilden können, dafs es nicht gelingt, durch Züchtung im Kulturzustande auch nur annähernd Ähnliches zu erreichen. Versuche, die Wirkung von Milzbrandexsudaten mittels Kulturflüssigkeiten zu erhalten, in denen der Bazillus ebenfalls unter Kapselbildung wächst, hatten bisher keinen rechten Erfolg. Es mufs aber die Möglichkeit, auf solche Weise zu einem positiven Ziele zu gelangen, ebenso zugegeben werden, wie dies für Extrakt aus Tierbazillen gelingen kann.

Es wird aber verständlich, warum es bei Milzbrand nicht gelingt, durch Anwendung von Exsudaten infizierter Tiere (Aggressinen) eine auffallende Infektionserleichterung herbeizuführen, ebenso wie der von Löhlein angestellte und von Bordet u. a. auch bei Streptokokken ausgeführte Versuch erklärt wird, dafs die Phagozytose von Kulturbazillen weder im Reagenzglase noch im Tierkörper durch das Aggressin verhindert wird: die saprophytisch gezüchteten Bazillen haben eben keine direkte Beziehung mehr zu den Tierbazillen und den von ihnen erzeugten Produkten. Die Tatsache, dafs Kulturbazillen, die in die Bauchhöhle eines intraperitoneal infizierten Tieres, die neben Leukozyten schon Bazillen enthält, rasch durch Phagozytose und extrazelluläre Degeneration zugrunde gehen, findet ihr vollständiges Analogon in den mitgeteilten Reagenzglasversuchen, in denen kapselfreie Bazillen durch Leukozyten trotz

Anwesenheit von Milzbrandexsudaten abgetötet werden. Nur für Tierbazillen gilt die Begünstigung durch Aggressine, die man aber nicht in der Aufhebung der bei ihnen ohnedies nicht möglichen Phagozytose, sondern nur durch die Hemmung der sonst möglichen Abtötung durch Zellen im Serum studieren kann.

Injiziert man in die leukozytenreiche Bauchhöhle eines intraperitoneal infizierten Meerschweinchens neue Kulturbazillen, so bemerkt man aufser extrazellulären Degenerationserscheinungen auch intrazelluläre, die sich an den rasch phagozytierten Bazillen verfolgen lassen. Das beweist, dafs auch in der von wirksamen Aggressin erfüllten Bauchhöhle die Zellen nicht nur morphologisch ungeschädigt sind, sondern dafs auch die in ihnen bakterizid tätigen Stoffe, mögen sie welcher Natur immer sein, noch durchaus aktionsfähig bleiben. Für tierische Bazillen läfst sich Ähnliches direkt nicht nachweisen, da sie der Phagozytose unzugänglich sind und die nach aufsen hin in Körpersäften eintretende Abtötung durch das im Exsudate enthaltene Aggressin gehemmt wird. Die bereits erwähnten Gefrierversuche beweisen aber, dafs auch gegen Tierbazillen die bakteriziden Leukozytenstoffe so vollständig wirksam bleiben, dafs sie selbst dann noch zur Geltung kommen, wenn die Zellen in reinem Aggressin aufgeschwemmt und darin eingefroren werden.

Diese Feststellung ist in zweifacher Hinsicht von grofser Wichtigkeit. Erstens beweist sie, dafs es sich bei der Hemmung der Bakterizidie von Zell-Serumkombinationen durch Milzbrandexsudate nicht um eine Bindung bakteriolytischer Stoffe handelt, wie solche im Serum als Immunkörper und Komplemente tätig sind. Sind die Endolysine der Leukozyten (Petersson) einmal in Freiheit gesetzt, so wirken sie trotz stärkstmöglicher Konzentration der im Mizbrandexsudate enthaltenen antibakteriolytischen Stoffe, welche also auch keine Bakterienbestandteile sein können, falls sich die für die Säftebakteriolyse gefundenen Regeln auf die noch so ungenügend untersuchte Leukozytenbakterizidie anwenden lassen.

Jede Art, auf welche sich die bakteriziden Zellstoffe in Lösung bringen lassen, ist geeignet, das gleiche Verhalten zu

demonstrieren. Aufser dem Eingefrieren der Zellen hat sich am besten die zuerst von Schattenfroh angegebene Methode der Erhitzung der Leukozyten auf 56—60° bewährt, während die Zerstörung derselben durch destilliertes Wasser (van de Velde) bei Milzbrand überhaupt nicht zu guten Resultaten führt. Es werden überdies noch einige Gefrierversuche angeführt.

Tabelle 24.

Gewöhnliche Versuchsanordnung, doch ist das Aggressin nur zentrifugiert und nicht sterilisiert und enthält in 0,5 ccm noch 4500 Bazillen.

	4 Stunden nach Einsatz von 5200 Tierbazillen
1. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat	4976
2. Ebenso gefroren	25
3. Leukozyten + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Normalexsudat	96
4. Ebenso gefroren	49
5. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat	8360
6. Ebenso gefroren	44
7. Leukozyten + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Normalexsudat	472
8. Ebenso gefroren	32
9. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	ca. 11 000
10. Ebenso gefroren	37
11. Leukozyten + 0,5 ccm Normalexsudat	172
12. Ebenso gefroren	31

Tabelle 25.

Genau wie der vorige Versuch angestellt, nur dafs sowohl das Aggressin wie die als Kontrolle verwendete normale Exsudatflüssigkeit $^1/_2$ Stunde auf 60° erhitzt und vollständig steril war.

	4 Stunden nach Einsaat von 10 300 Tierbazillen
1. Wie Nr. 1 des vorigen Versuches	9700
2. » » 2 » » »	232
3. » » 3 » » »	188
4. » » 4 » » »	22
5. » » 5 » » »	11 000
6. » » 6 » » »	212
7. » » 7 » » »	728
8. » » 8 » » »	17
9. » » 9 » » »	12 300
10. » » 10 » » »	39

	4 Stunden nach Einsaat von 10300 Tierbazillen
11. Wie Nr. 11 des vorigen Versuches	61
12. » » 12 » » »	50

Die zellfreien Flüssigkeiten liefsen in diesem wie in dem vorigen Versuche Wachstum ohne Hemmung zu.

Tabelle 26.

Gewöhnliche Versuchsanordnung; das Aggressin ist durch $^1/_2$ stündige Erwärmung auf 56[2] steril geworden.

	4 Stunden nach Einsaat von 11 200 Tierbazillen
1. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat . . .	8 464
2. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl 3 mal gefroren + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat	2 648
3. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl $^1/_2$ Std. 56° + 0,4 ccm Normalserum aktiv + 0,1 ccm Milzbrandexsudat .	14
4. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat . . .	10 400
5. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl 3 mal gefroren + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat	1 280
6. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl $^1/_2$ Stunde 56° + 0,25 ccm Normalserum aktiv + 0,25 ccm Milzbrandexsudat	79
7. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	20 000
8. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,5 ccm Milzbrandexsudat, 3 mal gefroren	20 000
9. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,5 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56°	7 200
10. Leukozyten in 0,2 ccm NaCl + 0,5 ccm Normalserum aktiv	1 440

Tabelle 27.

Das Milzbrandexsudat wird teils von vornherein in erhitztem ($^1/_2$ Stunde 56°) Zustande angewendet, teils wird es aktiv den Leukozyten zugesetzt und mit ihnen $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

	4 Stunden nach Einsaat von 9800 Tierbazillen
1. Leukozyten + 0,15 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56° + 0,35 ccm Serum aktiv	11 700
2. Leukozyten + 0,15 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Sunde 56°, 3 mal gefroren + 0,35 ccm Sernm aktiv . .	536
3. Leukozyten + 0,15 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung $^1/_2$ Stunde 56° + 0,35 ccm Serum aktiv	2

	4 Stunden nach Einsaat von 9800 Tierbazillen
4. Leukozyken 0,5 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56°	12 300
5. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56°, 3 mal gefroren	7 840
6. Leukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung 1/2 Stunde 56°	257
7. Leukozyten + 0,5 ccm Serum aktiv	3 712

Tabelle 28.

Die Leukozyten werden teils in den auf verschiedene Weise behandelten Versuchsflüssigkeiten belassen, teils abzentrifugiert.

	4 Stunden nach Einsaat 9500 Tierbazillen.
1. Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56° + 0,4 ccm Serum aktiv	9 800
2. Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56°, 3 mal gefroren + 0,4 ccm Serum aktiv	0
3. Wie Nr. 2, zentrifugiert	0
4. Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung 1/2 Stunde 56° + 0,4 ccm Serum aktiv	0
5. Wie Nr. 4, zentrifugiert	3
6. Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56° + 0,25 ccm Serum aktiv	15 000
7. Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Stunde 56°, 3 mal gefroren + 0,25 ccm Serum aktiv	7
8. Wie No. 7, zentrifugiert	5
9. Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung 1/2 Stunde 56° + 0,25 ccm Serum aktiv	4
10. Wie Nr. 9, zentrifugiert	17
11. Leukozyten + 0,5 ccm Serum akt.	256

Tabelle 29.

Zum Versuche wird einerseits Milzbrandexsudat, anderseits Extrakte aus Bazillen benutzt, die in folgender Weise hergestellt wurden:

I. Gewaschene Bazillen aus ca. 8 ccm Milzbrandexsudat in 0,25 ccm NaCl 1 Stunde auf 70° erhitzt + 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit.

II. Gewaschene Bazillen aus 5 jungen Agarkulturen in 0,25 ccm NaCl 1 Stunde auf 70° erhitzt + 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit.

III. Kontrolle 0,25 ccm NaCl + 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit.

Nach 1 stündigem Aufenthalte bei 37° werden alle Flüssigkeiten gründlich zentrifugiert und teils aktiv, teils nach vorheriger Erwärmung auf 56° verwendet.

		4 Stunden nach Einsaat von 7120 Tierbazillen
1.	Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56° + 0,4 ccm Serum aktiv	1032
2.	Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56°. 3 mal gefroren + 0,4 ccm Serum aktiv . .	39
3.	Leukozyten + 0,1 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung $^1/_2$ Stunde 56° + 0,4 ccm Serum aktiv	22
4.	Wie Nr. 1 mit Extrakt I	95
5.	» » 2 » » I	20
6.	» » 3 » » I	28
7.	» » 1 » » II	12
8.	» » 2 » » II	19
9.	» » 3 » » II	18
10.	» » 1 » » III	31
11.	» » 2 » » III	2
12.	» » 3 » » III	14
13.	Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 56° + 0,25 ccm Serum aktiv	2544
14.	Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Stunde 65°, 3 mal gefroren + 0,35 ccm Serum aktiv .	20
15.	Leukozyten + 0,25 ccm Milzbrandexsudat aktiv, die Mischung $^1/_2$ Stunde 56° + 0,25 ccm Serum aktiv	21
16.	Wie Nr. 13 mit Extrakt I	136
17.	» » 14 » » I	31
18.	» » 15 » » I	7
19.	» » 13 » » II	80
20.	» » 14 » » II	21
21.	» » 15 » » II	8
22.	» » 13 » » III	6
23.	» » 14 » » III	0
24.	» » 15 » » III	15
25.	Leukozyten + 0,5 ccm Serum aktiv	72

Es ist ganz klar, dafs nach diesen Versuchen von einer Bindung der bakterizid wirksamen Leukozytenstoffe nicht gesprochen werden kann. Da die Milzbrandabtötung durch Meerschweinchenleukozyten weitaus am besten erfolgt, wenn die Zellen in Meerschweinchenserum aufgeschwemmt sind, so kann auch dieses durch die Stoffe des Milzbrandexsudates nicht wesentlich gelitten haben.

Es dürfte zweckmäfsig sein, noch einmal zusammenfassend auf die ganz eigenartigen Verhältnisse dieser Zell-Serumbakterizidie hinzuweisen. Die Zellen sind zwar auch an sich, in

indifferenter Flüssigkeit auspendiert, wirksam, entfalten aber ihre stärksten Aktionen erst bei Anwesenheit von Serum oder Exsudatflüssigkeit. Das Komplement des Serums ist nicht erforderlich, da die Keimtötung bei Mischung von Zellen und erhitztem Serum noch ganz regelmäfsig eintritt (vgl. Tab. 21, 22). Hingegen kann durch Behandlung des Serums mit grofsen Mengen toten Bakterien in nicht spezifischer Art die Wirkung der Zell-Serumbakteriolyse beseitigt werden. Weil hat daher von der Bindung eines die Zellwirkung mindestens begünstigenden, leukotaktischen Immunkörpers gesprochen.

Eine Aufhebung der Zell-Serumbakterizidie wäre demnach auf mehrfache Weise erreichbar: durch Bindung des leukotaktischen Serumimmunkörpers und durch eine Beeinflussung der Leukozyten. In bezug auf die letztere wäre wieder an eine direkte Bindung der in ihnen enthaltenen bakteriziden Stoffe zu denken oder an eine Behinderung ihrer Abgabe nach aufsen in die umgebende Flüssigkeit, ohne welche ja eine Wirkung nicht verständlich wäre, sobald, wie in fast allen der mitgeteilten Versuche, die Phagozytose ausgeschlossen ist.

Eine Bindung des leukotaktischen Immunkörpers ist schwer anzunehmen, einmal weil Exsudate, die mit sehr grofsen Mengen toter, tierischer Bazillen behandelt sind, mindestens quantitativ nicht die gleiche Wirkung ausüben, wie Milzbrandexsudate, die durch Infektion gewonnen wurden, dann aber auch, weil die letzteren wieder bakterizid werden können, sobald die Zellen in ihnen durch Eingefrieren oder Erhitzen extrahiert werden. Immerhin soll jedoch dieser Gegenstand noch weiteren Studien vorbehalten bleiben, da die geringe Kenntnis, die wir augenblicklich noch über den näheren Mechanismus der Zell-Serumbakterizidie besitzen, eine gewisse Reserve auferlegt.

Dennoch ist es viel wahrscheinlicher, dafs die Milzbrandexsudate als Aggressine direkt auf die Leukozyten einwirken, nicht im Sinne einer Bindung der aus den Zellen abgebbaren milzbrandfeindlichen Stoffe, sondern durch Behinderung dieser Abgabe selbst. Die Bindung wird durch das Ergebnis der Versuche mit gefrorenen und erhitzten Zellen augeschlossen, während

man sich sehr gut vorstellen kann, dafs unter dem Einflusse von Produkten des Milzbrandbazillus eine Art Lähmung der Leukozyten erfolgt, welche den Austritt der bakteriziden Zellstoffe verhindert, ohne sonst dieselben zu schädigen. Dafür sprechen vor allem direkte Versuche, bei denen Zellen, welche der Einwirkung von Milzbrandexsudaten ausgesetzt waren, ihre Bakterizidie in Serum auch dann noch als abgeschwächt zeigen, wenn die Exsudate durch Zentrifugieren und kurzes Waschen entfernt sind.

Tabelle 30.

Normale Meerschweinchenleukozyten werden in 2 Teilen, welche genug Zellen für je 4 Proben enthalten, gewaschen und dann in folgender Weise behandelt:

a) Leukozyten + 5 ccm Milzbrandexsudat (zentrifugiert, aber nicht erhitzt).

b) Leukozyten + 5 ccm Normalexsudat aktiv.

Die Proben bleiben 1 Stunde bei 37°, werden dann mit NaCl-Lösung auf je 20 ccm aufgefüllt, zu je 5 ccm in Eprouvetten verteilt und zentrifugiert. Die Bodensätze werden dann in folgender Weise verwendet:

	4 Stunden nach Einsaat von 9800 Tierbazillen
1. Leukozyten a) + 0,5 ccm Normalserum aktiv . .	24 000
2. » b) + 0,4 ccm Normalexsudatflüssigkeit aktiv	22 500
3. Leukozyten a) + 0,5 ccm NaCl-Lösung	25 000
4. » b) + 0,5 ccm Normalserum aktiv . .	1 696
5. » b) + 0,5 ccm Normalexsudatflüssigkeit aktiv	1 168
6. Leukozyten b) + 0,5 ccm NaCl-Lösung	4 624

Je eine Probe beider Leukozyten mit NaCl-Lösung blieb ohne Einsaat durch 4 Stunden bei 37°; die mit den Leukozyten a) lieferte 436 Kolonien, die andere blieb steril.

Tabelle 31.

Aufser dem sorgfältig zentrifugierten, aber nicht sterilisiertem Exsudate eines ip. infizierten Milzbrandmeerschweinchens werden noch Extrakte von den gesamten Bazillen aus 11 ccm Milzbrandexsudat und aus 3 üppigen, jungen Agarkulturen verwendet. Die Extrakte wurden so hergestellt, dafs die Bazillen mit 6 ccm NaCl-Lösung 3 Stunden bei 60°, dann ca. 20 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und dann zentrifugiert wurden. Je 2 ccm Milzbrand und Normalexsudat, Extrakt aus Tier- und Kulturbazillen und NaCl-Lösung kamen auf einen Teil der Leukozyten, blieben damit 1 Stunde bei 37°, wurden dann zentrifugiert und 1 mal gewaschen.

		4 Stunden nach Einsaat von 5320 Tierbazillen.
1.	Leukozyten mit Milzbrandexsudat beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	ca. 30 000
2.	Leukozyten mit Normalexudat beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	41
3.	Leukozyten mit Tierbazillenextrakt beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	68
4.	Leukozyten mit Kulturextrakt beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	128
5.	Leukozyten mit NaCl-Lösung beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	24
6.	0,5 ccm Normalserum aktiv	28 000
7.	Wie 1—6, aber mit NaCl-Lösung als Aufschwemmungsflüssigkeit	19 550
8.		4 512
9.		4 908
10.		5 200
11.	»	1 072
12.	»	12 000

Eine Probe mit Milzbrandexsudat behandelter Leukozyten, die ohne Einsaat 4 Stunden bei 37° mit Normalserum belassen wurde, ergab 6000 Kolonien.

Tabelle 32.

Verwendet wird Milzbrandexsudat und ein Extrakt, hergestellt aus den Bazillen von 8 ccm Milzbrandexsudat, welche in 0,5 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde auf 60° erhitzt, mit 3 ccm Normalexsudatflüssigkeit 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und dann zentrifugiert wurden. Eine Probe der gleichen auf 3 ccm mit 0,5 ccm NaCl-Lösung versetzten Exsudatflüssigkeit wurde als Kontrolle ohne Bazillen hergestellt. Sämtliche Flüssigkeiten wurden ½ Stunde auf 56° erwärmt; das Milzbrandexsudat war danach steril.

		4 Stunden nach Einsaat von 10 800 Tierbazillen.
1.	Leukozyten mit 1 ccm Milzbrandexsudat beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	1 478
2.	Ebenso, aber 3 mal gefroren	248
3.	Leukozyten mit 1 ccm Extrakt beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	9
4.	Ebenso, aber 3 mal gefroren	5
5.	Leukozyten mit 1 ccm Normalexsudat beh. + 0,5 ccm Normalserum aktiv	6
6.	Ebenso, aber 3 mal gefroren	0
7.	0,5 ccm Normalserum aktiv	20 000

Tabelle 33.

Behandelt werden:

a) 4 Teile Leukozyten + 6 ccm Milzbrandexsudat ½ Stunde 56°.
b) 4 » » + 6 » Normalexsudat ½ » 56°.

Nach 1stündigem Aufenthalte bei 38° werden die Leukozyten wieder abzentrifugiert und in 4 Teile geteilt, gewaschen.

	4 Stunden nach Einsaat von 16000 Tierbazillen	19000 Bouillonbazillen
1. Leukozyten a) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	21000	2544
2. Ebenso, gefroren	95	4256
3. Leukozyten b) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	264	2796
4. Ebenso, gefroren	39	1760
5. 0,5 ccm Normalserum aktiv	ca. 100000	ca. 100000

Tabelle 34.

Die Leukozyten werden mit den Exsudaten je eines mit Milzbrand, Typhus und Cholera intraperitoneal infizierten und mit dem eines normalen, mit Bouillon vorgeimpften Meerschweinchens behandelt. Die gleichen Exsudate waren zum Versuch der Tabelle 12 verwendet worden.

a) 2 Teile Leukozyten + 4 ccm Milzbrandexsudat 1/2 Std. 56°
b) 2 Teile Leukozyten + 4 ccm Choleraexsudat 1/2 Std. 56°
c) 2 Teile Leukozyten + 4 ccm Typhusexsudat 1/2 Std. 56°
d) 2 Teile Leukozyten + 4 ccm Normalexsudat 1/2 Std. 56°.

Nach 1stündigem Aufenthalte bei 37° werden die Zellen abzentrifugiert und in je 2 Teilen gewaschen.

	4 Stunden nach Einsaat von 10400 Tierbazillen
1. Leukozyten a) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	1592
2. Ebenso, gefroren	3
3. Leukozyten b) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	43
4. Ebenso, gefroren	88
5. Leukozyten c) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	12
6. Ebenso, gefroren	328
7. Leukozyten d) + 0,5 ccm Normalserum aktiv	11
8. Ebenso, gefroren	3

Die mitgeteilten Versuche sprechen für eine Beeinflussung der Zellen durch die Milzbrandexsudate. Zweifellos wirken Leukozyten, welche durch einige Zeit der Einwirkung von Milzbrandaggressin ausgesetzt waren, auch dann noch, wenn dieses durch Zentrifugieren und Waschen beseitigt ist, wesentlich schlechter als normale Leukozyten oder solche, welche mit einem sterilen oder doch nicht von Milzbrand erzeugten Exsudate vorbehandelt sind. Werden die Zellen durch Gefrieren abgetötet und extrahiert, so merkt man von einer Schwächung der Bakterizidie nichts mehr. Allerdings ist im allgemeinen der Verlust an bak-

terizider Kraft, den derart behandelte Leukozyten erlitten haben, nur ein relativ geringer, und einzelne Versuche sprechen dafür, dafs ein wiederholtes Waschen der mit Aggressin vorbehandelten Zellen sie wieder ganz aktionsfähig macht. Da die geringen Mengen Aggressin, die nach einmaligem Waschen der vorbehandelten Zellen noch an ihnen haften können, nicht ausreichen, um ihren Bakterizidieverlust hinreichend zu erklären, mufs man bis auf weiteres annehmen, dafs das Aggressin die Leukozyten in eine Art Betäubung versetzt, in welcher sie ihre keimfeindlichen Stoffe nicht mehr nach aufsen abgeben, aus dem sie sich aber wieder erholen können, da sie sonst nicht geschädigt werden.

Es mufs jedoch bemerkt werden, dafs die Wiederkehr der Bakterizidie vorbehandelter Zellen nach mehrfachen Waschungen auch noch eine andere Deutung zuläfst. Bei allen diesen Manipulationen läfst es sich nämlich nicht vermeiden, dafs eine Anzahl von Zellen zugrunde geht. Damit aber werden die bakteriziden Stoffe derselben frei und gegen diese ist, wie die Gefrierversuche zeigen, das Aggressin machtlos. Auf ein derartiges Absterben von Leukozyten während der Versuchsdauer dürfte es auch zurückzuführen sein, wenn in einer Mischung von Zellen mit aggressinhaltigen Flüssigkeiten in vielen Fällen noch ein geringer Rest von Keimvernichtung oder Entwicklungshemmung zurückbleibt. Im Tierkörper, an dessen Leukozyten man keine Veränderungen wahrnimmt, liegen die Verhältnisse für den Milzbrand offenbar noch viel günstiger wie im Reagenzglasversuche.

Einige Worte verdient noch die unzweideutige Spezifität der Wirkung des Milzbrandaggressins auf die Leukozyten. Namentlich dann, wenn die hier angenommene Erklärung einer Lähmung der Zellen durch das Aggressin richtig ist, erscheint es auffallend, dafs die bakteriziden Stoffe nur dann nicht aus den Zellen herausgehen sollen, wenn Milzbrand zum Versuche genommen wird, während z. B. der Heubazillus durch sie abgetötet wird. Anzunehmen, dafs in der Zelle verschiedene Stoffe vorhanden seien, von denen die einen nur auf Milzbrand, andere nur auf Subtilis wirken, geht wohl nicht an, obwohl man für das Serum vor einer Annahme einer unbegrenzten Vielheit

spezifisch aktiver Stoffe nicht zurückgeschreckt ist. Die Spezifität verliert aber viel von ihrem auffälligen Charakter, wenn man bedenkt, dafs es sich bei jeder Reaktion zwischen Bakterien und dem Tierkörper um eine wechselseitige Beeinflussung handelt. So unvollständig auch unsere Kenntnisse über die Wirkung der Leukozyten auf Bakterien noch sein mögen, so dürfte doch feststehen, dafs eine solche in zweifacher Art möglich ist. Es können durch Zugrundegehen der Zellen mit einem Schlage relativ grofse Mengen der in ihnen enthaltenen bakteriziden Stoffe in Freiheit gesetzt werden oder es findet eine allmähliche Sekretion derselben bei erhaltener Vitalität der Zellen statt. Beides kann sowohl im Tierkörper als im Reagenzglase erfolgen. Ersteres erfolgt durch leukozide Stoffwechselprodukte der Bakterien, welche nach Eisenbergs Untersuchungen wahrscheinlich eine gröfsere Verbreitung haben, als man ursprünglich annahm; im Reagenzglasversuche ist eine Leukozytenzerstörung unter Abgabe der bakteriziden Stoffe auf verschiedene Weise erreichbar. Die Sekretion keimfeindlicher Substanzen durch lebende Leukozyten findet in ganz reiner Form wahrscheinlich nur im Tierkörper statt, während die notwendigen Unvollkommenheiten des auf mehrere Stunden ausgedehnten Glasversuches stets eine gemichte Wirkung von vital und letal abgegebenen Stoffen erwarten lassen, so dafs erst eine genaue Vergleichung über den jeweiligen Anteil beider am Effekte der Bakterienvernichtung Aufschlufs geben kann.

Jede vitale Sekretion kann aber bis zu einem gewissen Grade durch äufsere Anlässe (Reize) gesteigert werden, und die Anwesenheit von lebenden Bakterien bildet einen solchen Reiz für die Abgabe bakterizider Stoffe, die sonst nicht oder doch nur in geringerem Ausmafse erfolgen würde. Man kann sich das nach einer gegenwärtig sehr zur Annahme gelangten Vorstellungsweise auch so denken, dafs die Bakterien zu den Leukozytenstoffen eine gewisse Affinität haben und so gewissermafsen dieselben aus den Zellen heraus an sich heranziehen. Der keimtötende Effekt hängt dann davon ab, ob die Retention in der Zelle oder die Anziehungskraft durch die Bakterien das Stärkere

ist. Bei einem gewöhnlichen bakteriziden Versuche mit lebenden Leukozyten wie auch beim Beginne der intraperitonealen Infektion im Meerschweinchen ist dies offenbar der Fall, während bei Anwesenheit von Aggressin die Retention der bakteriziden Stoffe in der Zelle verstärkt wird, was eben jene Art Lähmung der Leukozyten ausmacht, von der oben gesprochen wurde. Die Folge davon ist das Ausbleiben der Milzbrandvernichtung. Ein anderer Mikroorganismus als der Milzbrandbazillus, dessen Affinität zu den Leukozytenstoffen eine andere ist, gibt die verstärkte Retention der Leukozytenstoffe nicht, ja selbst nicht für den Kulturzustand des Milzbrandes. Ihre andersartige Affinität erlaubt nach wie vor die Anziehung der bakteriziden Substanzen aus den Zellen.

Denkbar wäre auch, daſs das Aggressin einfach die Affinität der Bazillen zu den Leukozytenstoffen vermindert oder aufhebt, aber dagegen spricht die starke und sichere Wirkung gefrorener Zellen, selbst in unverdünntem Exsudate. Bis auf weitere Untersuchungen, die allerdings in diesem noch wenig erforschten und dabei wichtigen und interessanten Gebiete sehr erwünscht sind und auch fortgesetzt werden, erscheint die Erklärung des Versagens der Milzbrandabtötung durch eine direkte Beeinflussung der Leukozyten durch das aggressive Exsudat als die beste.

Von der Bedeutung dieser Befunde für die Erklärung des Infektionsproblems war bereits oben die Rede. Um aber zu untersuchen, ob die im Reagenzglase demonstrable Wirkung des Aggressins auf die Verhältnisse bei der Infektion wirklich übertragen werden könne, schien es wünschenswert zu untersuchen, wie sich Zellen und Säfte eines natürlich immunen Tieres gegen das Aggressin, welches die eines empfänglichen Lebewesens paralysiert, verhalten. Die Versuche wurden an Tauben, deren hohe angeborene Immunität gegen Milzbrand bekannt ist, ausgeführt und hatten einen in seiner absoluten Regelmäſsigkeit kaum erhofften Erfolg. Die Versuchsanordnung bestand darin, daſs ein und dasselbe Milzbrandexsudat, das von Meerschweinchen gewonnen war, einerseits auf Meerschweinchen-, anderseits auf Taubenleukozyten wirkte.

Tabelle 35.

Das Milzbrandexsudat wurde vor seiner Verwendung $^1/_2$ Stunde auf 58° erwärmt und ist steril. Es wurde in der gewöhnlichen Weise von einem intraperitoneal infizierten Meerschweinchen gewonnen.

	4 Stunden nach Einsaat von 23000 Tierbazillen
1. Taubenleukozyten + 0,35 ccm Meerschweinchenserum aktiv + 0,15 ccm Milzbrandexsudat	184
2. Ebenso, gefroren	0
3. Taubenleukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	ca. 50000
4. Ebenso, gefroren	19
5. Meerschweinchenleukozyten + 0,35 ccm Meerschweinchenserum aktiv + 0,15 ccm Milzbrandexsudat	19000
6. Ebenso, gefroren	8200
7. Meerschweinchenleukozyten + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	ca. 50000
8. Ebenso gefroren	40000

Tabelle 36.

Die gleichen Zellen und Flüssigkeiten, wie im vorigen, gleichzeitig angestellten Versuche. Es werden vorbehandelt:

a) 2 Teile Leukozyten + 2,6 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Std. 58°
b) 2 Teile Leukozyten + 2,6 ccm Normalexsudat $^1/_2$ Std. 58°
c) 2 Teile Taubenleukozyten + 6 ccm Milzbrandexsudat $^1/_2$ Std. 56°
d) 2 Teile Taubenleukozyten + 6 ccm Normalexsudat $^1/_2$ Std. 56°.

Nach $^3/_4$stündigem Aufenthalte bei 37° werden die Zellen abzentrifugiert, verteilt und gewaschen.

	Einsaat wie im vorigen Versuch
1. Leukozyten a) + 0,5 ccm Meerschweinchenserum aktiv	21200
2. Ebenso, gefroren	1696
3. Leukozyten b) + 0,5 ccm Meerschweinchenserum aktiv	1738
4. Ebenso, gefroren	32
5. Leukozyten c) + 0,5 ccm Meerschweinchenserum aktiv	14
6. Ebenso, gefroren	0
7. Leukozyten d) + 0,5 ccm Meerschweinchenserum aktiv	0
8. Ebenso, gefroren	0

Tabelle 37.

Das verwendete Milzbrandexsudat ist $^1/_2$ Stunde auf 58—60° erhitzt und steril.

Taubenserum mit	4 Stunden nach Einsaat von 12000 Tierbazillen a) Tauben-leukozyten	b) Meerschweinchen-leukozyten
1. 0,5 ccm ›	6	2640
2. 0,45 › › + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	52	6200

Taubenserum mit	4 Stunden nach Einsaat von 12000 Tierbazillen a) Taubenleukozyten	b) Meerschweinchenleukozyten
3. 0,35 ccm » + 0,15 ccm Milzbrandexsudat	23	8800
4. 0,25 » » + 0,25 » »	9	8600
5. 0 » » + 0,5 » »	5280	13000
6. 0,45 » » + 0,05 » Normalexsudat	14	1928
7. 0,25 » » + 0,25 » »	36	240
8. 0 » » + 0,5 » »	3928	0

Sämtliche Flüssigkeiten ohne Zellen liefsen ungehemmte Vermehrung zu.

Tabelle 38.

Das verwendete Milzbrand- und das zur Kontrolle dienende Normalexsudat sind ½ Stunde auf 60° erhitzt und steril. Die Aufschwemmungsflüssigkeit ist überall aktives Meerschweinchenserum.

	4 Stunden nach Einsaat von 9600 Tierbazillen a) Taubenleukozyten	b) Meerschweinchenleukozyten
1. 0,5 ccm Serum	0	432
2. 0,4 » » + 0,1 ccm Milzbrandexsudat	0	6 616
3. 0,4 » » + 0,1 » Normalexsudat .	0	312
4. 0,25 » » + 0,25 » Milzbrandexsudat	0	7 800
5. 0,25 » » + 0,25 » Normalexsudat .	0	296
6. 0,5 » Milzbrandexsudat	8	ca. 10 000
7. 0,5 » Normalexsudat	0	67

Tabelle 39.

Milzbrand und Normalexsudate sind ½ Stunde auf 60° erhitzt und steril.

A) Es werden vorbehandelt

a) 2 Teile Taubenleukozyten + 3 ccm Milzbrandexsudat,
b) 2 Teile Taubenleukozyten + 3 ccm Normalexsudat,
c) 2 Teile Meerschweinchenleukozyten + 3 ccm Milzbrandexsudat,
d) 2 Teile Meerschweinchenleukozyten + 3 ccm Normalexsudat.

Nach 1stündigem Aufenthalte bei 38° werden alle Proben zentrifugiert und die Leukozyten in je 2 Teilen gewaschen.

	4 Stunden nach Einsaat von 12000 Tierbazillen
1. Leukozyten a) + 0,5 ccm Taubenserum aktiv	4
2. » + 0,5 » Meerschweinchenserum aktiv	12
3. » b) + 0,5 » Taubenserum aktiv	19
4. » + 0,5 » Meerschweinchenserum aktiv	17
5. » c) + 0,5 » Taubenserum aktiv	2832
6. » + 0,5 » Meerschweinchenserum aktiv	4832
7. » d) + 0,5 » Taubenserum aktiv	1334
8. » + 0,5 » Meerschweinchenserum aktiv	364

B) Die gleichen Flüssigkeiten und nicht vorbehandelte Zellen wie im vorigen Versuche, gleiche Einsaat.

	a) Tauben-leukozyten	b) Meerschweinchen-leukozyten
1. Zellen + 0,35 ccm Taubenserum + 0,15 ccm Milzbrandexsudat . .	19	5276
2. Zellen + 0,35 ccm Taubenserum + 0,15 ccm Normalexsudat . . .	8	1008
3. Zellen + 0,5 ccm Milzbrandexsudat	22	7560
4. Zellen + 0,5 ccm Normalexsudat .	10	64

Die Flüssigkeiten ohne Zellen liefsen ungehemmte Vermehrung zu bis auf die Probe mit 0,5 ccm Normalexsudat, welche 8600 Keime lieferte.

Tabelle 40.

Exsudate bei 58° erhitzt und steril.

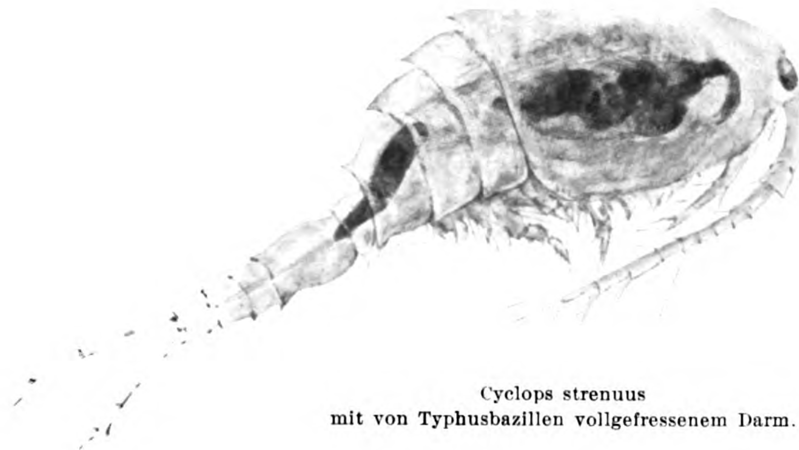
	4 Stunden nach Einsaat von 16 000 Tierbazillen	
	a) Tauben-leukozyten	b) Meerschweinchen-leukozyten
1. Zellen + 0,35 ccm Taubenserum aktiv + 0,15 ccm Milzbrandexsudat . . .	0	9 800
2. Zellen + 0,35 ccm Taubenserum aktiv + 0,15 ccm Normalexsudat	12	1 328
3. Zellen + 0,35 ccm Meerschweinchen-serum aktiv + 0,15 ccm Milzbrandexsudat	98	6 960
4. Zellen + 0,35 ccm Meerschweinchen-serum aktiv + 0,35 ccm Normalexsudat	10	102
5. Zellen + 0,5 ccm Milzbrandexsudat .	1760	ca. 12 000
6. Zellen + 0,5 ccm Normalexsudat . .	9	1 288
7. Zellen + 0,5 ccm Taubenserum aktiv .	24	3 060
8. Zellen + 0,5 ccm Meerschweinchen-serum aktiv	14	2 648

Sämtliche Flüssigkeiten ohne Zellen liefsen ungehemmte Vermehrung zu.

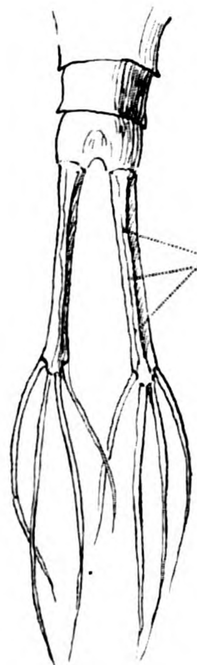
Bis auf Details, die auch in den früheren Versuchen öfters wechselten (mehr oder weniger starke Bakterizidie der Zell-serummischungen, vollständige oder nur teilweise Paralysierung der Bakterizidie durch die angewendeten Aggressine, bisweilen Eigenbakterizidie der Normalexsudate usw.) stimmen alle Versuche vollständig überein und ergeben die höchst bemerkenswerte Tatsache, dafs die doch jedenfalls während der Infektion gebildeten Eigenschaften der Körperflüssigkeiten milzbrandiger empfänglicher Tiere (Meerschweinchen) nur gegen die sonst mögliche Aktivität der Zellen und Säfte empfindlicher Tiere sich

richten, während die im Prinzip gleichen Wirkungen, die von Leukozyten und Serum natürlich immuner Tiere ausgehen, dadurch gar nicht oder nur in sehr geringem Grade beeinflufst werden.

Die Verfasser sind sich vollkommen bewufst, dafs die mitgeteilten Versuche das in Angriff genommene Thema keineswegs noch völlig klargelegt, geschweige denn erschöpft haben. Es ist zwar sichergestellt, dafs im Laufe der Milzbrandinfektion beim Meerschweinchen eine sonst vorhandene keimfeindliche Fähigkeit des Organismus verloren geht, und dafs dieser Verlust auf das Auftreten von Eigenschaften in den Flüssigkeiten der infizierten Tiere zu beziehen ist, welche zu einer mehr minder weitgehenden Aufhebung der milzbrandfeindlichen Kraft des Organismus führen. Es läfst sich auch aus dieser Feststellung der eigentümliche Verlauf der intraperitonealen Meerschweincheninfektion aufs beste erklären, und der Umstand, dafs die beim empfindlichen Meerschweinchen so leicht mögliche Beseitigung der Milzbrandbakterizidie wenigstens bei einem immunen Tiere, der Taube, nicht gelingt, gibt einerseits eine indirekte Bestätigung der Wichtigkeit der als aggressiv bezeichneten Wirkung der infizierten Körperflüssigkeiten, anderseits liegt in ihr die Möglichkeit einer Erklärung des Wesens der natürlichen Immunität vor. Dasselbe würde in der Unfähigkeit des Milzbrandbazillus zu erblicken sein, mit seinen aggressiven Eigenschaften die keimfeindlichen Kräfte des immunen Organismus zu überwinden. Damit ist aber gesagt, dafs die Immunität keineswegs in dem Bestehen besonderer milzbrandfeindlicher Aktivität zu suchen ist. Die Taube hat keine wesentlich stärkeren milzbrandtötenden Fähigkeiten als das Meerschweinchen. Aber diese bleiben wirksam.



Cyclops strenuus
mit von Typhusbazillen vollgefressenem Darm.



Chitinleiste auf der Schwanzborste
als Kennzeichen des Cyclops strenuus.



Natürliche Gröfse
des Cyclops strenuus.

Druck und Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

Das Schicksal der in die Blutbahn geschickten Bakterien.

Von

Dr. R. Arima,

Professor extr. der Klinik.

(Aus der Klinik für Phthisis der medizinischen Akademie in Osaka.
Direktor: Professor A. Sata.)

Dafs die Bakterien, welche bei Infektionskrankheiten in die Blutbahn eingedrungen sind, hauptsächlich in der Milz, im Knochenmark, insbesondere in den Kapillaren der betreffenden Organe vernichtet werden sollen, ist eine allgemeine Annahme, die von vielen Forschern bei Tierversuchen einerseits, an einzelnen Leichen anderseits ohne sichere Begründung gemacht worden ist. Um die Frage, in welchen Organen die Bakterien bei allgemeiner Infektion meist vernichtet werden, oder in welchen sie dagegen sich vermehren können, gründlich zu beantworten, unternahm ich vorliegende Experimente.

Methodik.

Bakterienarten: 1. Staphylococcus pyogenes aureus; 2. Bacterium coli commune; 3. Bacterium typhi (von schwächerer Virulenz).

Die genau abgewogenen frischen Agarkulturen wurden in 0,9% Kochsalzlösung gut aufgeschwemmt und Kaninchen von möglichst gleichem Körpergewichte in die Ohrvene eingespritzt. Die Tiere wurden nach bestimmten Zeiten durch Entblutung

zum Tode gebracht und sogleich steril seziert. Die Organe wurden einzeln in die vorher sterilisierten und gewogenen Petrischen Schälchen aufgenommen und wiederum gewogen. Die derart ziemlich genau gewogenen Organe wurden nun ganz steril zerrieben, mit 0,9% Kochsalzlösung in zweckmäfsigen Verhältnissen verdünnt, genau mit Pipette abgemessen und in die Platte gegossen, und nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutofen wurden die Kolonien gezählt. Das Blut wurde sogleich defibriniert, der Harn und die Galle wurden in zweckmäfsiger Verdünnung in gleicher Weise behandelt und die Kolonien gezählt. Dabei erwuchs mir die Schwierigkeit, dafs ich keinen sterilen Raum hatte, worin ich während des Zerreibens vor Verunreinigung geschützt frei arbeiten konnte. Ein enges Zimmer in unserem Laboratorium entsprach niemals diesen Ansprüchen; eine Verunreinigung machte manchmal die Resultate unsicher, um so mehr unsicher war es freilich für die einfache Laboratoriumsarbeit. Nach Reihen vergebener Arbeiten bediente ich mich zu diesem Zwecke einer Kammer, die durch Glasscheiben von der Laboratoriumsluft ziemlich dicht ausgeschlossen war. Der Fufsboden der Kammer wurde vor der Arbeit mit Sublimatlösung benäfst und der Raum durch fortwährend entwickelnden Wasserdampf immer feucht gehalten, und ich, steril angezogen, die Hände mit Sublimat und Alkohol desinfiziert, arbeitete darin.

(Tabelle siehe S. 268 u. 269.)

Nun werde ich hier versuchen, die Resultate an einzelnen Organen zu erörtern.

Brust und Bauchhöhle

waren immer keimfrei, wie es Peiser (Breslau) schon im Jahre 1907 experimentell festgestellt hatte. Die Bauchhöhle aber enthielt fast immer klare Flüssigkeit in etwas vermehrter Menge.

Blut.

Das Blut bei den Bakteriämie erzeugenden Infektionskrankheiten, wie Typhus abdominalis, Influenza etc., könnte von Bakterien ziemlich lange infiziert bleiben. Allgemein betrachtet

könnte dies der Fall sein, weil die schon einmal an die Wand der Organenkapillaren angesetzten Bakterien, durch Blutstrom abgestoſsen, wieder in die Blutbahn gelangen können. In der Wirklichkeit dagegen, wie man aus der Tabelle ersieht, verschwinden sie ziemlich rasch. Schon nach fünf Minuten lassen sie sich im Blut nur sehr wenig nachweisen, und nach einer halben Stunde fast nicht mehr. Streng genommen müſste man indessen den Einwand gelten lassen, daſs die bakterizide Wirkung des Blutes auch während des zum Organzerreiben nötigen Zeitraumes wirken kann, was aber doch für alle Organe zum Teil gleich gälte.

Lunge.

Vor allem ist es denkbar, daſs die in die Vene eingespritzten Bakterien zuerst am meisten an die Kapillaren der Lunge anhaften. Die Kapillaren des lockeren Lungengewebes scheinen jedoch leicht durchlässig für die Bakterien zu sein. Schon fünf Minuten nach der Injektion befinden sich die Bakterien verhältnismäſsig wenig in der Lunge. Die Bakterien wurden zweifellos teils durch bakterizide Wirkung des Blutes vernichtet, teils durch den Transport nach andern Organen entfernt.

Milz.

Das Bakterienanziehungsvermögen der Milz wird ihrer bakterientötenden Kraft entsprechend gesteigert. Beide stehen jedoch schon in der relativen Zahl (Bakterienzahl in 1 cg) denen der Leber nach, noch mehr in der absoluten (Bakterienzahl im ganzen Organe).

Knochenmark.

Daſs die Bakterien (Staphylokokken), in das Blut injiziert, nach kurzer Zeit darin verschwinden und dann später in dem Knochenmark wieder gefunden werden (Binda, Archiv de méd. expér. IX. 5), ist nach den Ergebnissen meiner Versuche nicht stichhaltig. Man sieht nämlich aus der Tabelle, daſs die Bakterien schon direkt nach der Injektion reichlich in das Knochenmark

I. Staphylococcus

Nr.	Körpergewicht in kg	Bakterienmenge	Lebensdauer	Zahl der Bakterien					
				Bauchhöhle	Brusthöhle	Blut 0,1 ccm	Lunge	Milz	Knochenmark
1.	2,000	1 mg	5 Min.	—	—	—	5,540	45,000	9,000
2.	2,000	›	1 Std.	—	—	1	5,550	27,075	7,500
3.	2,100	›	3 Stdn.	—	—	2	772	6,024	3,028
4.	2,070	›	6 ›	—	—	—	135	760	1,064
5.	2,150	›	12 ›	—	—	—	12	19	16
6.	2,300	›	24 ›	—	—	—	83	52	13
7.	2,250	›	48 ›	—	—	—	—	31	—

II. Bacterium

8.	2,030	1 mg	5 Min.	—	—	64	5,264	96,000	10,660
9.	2,000	›	30 ›	—	—	—	1,320	135,000	5,440
10.	2,120	›	1 Std.	—	—	—	486	15,000	5,936
11.	2,050	›	3 Stdn.	—	—	—	42	888	4,256
12.	2,100	›	6 ›	—	—	—	56	1,092	944
13.	2,010	›	12 ›	—	—	—	181	276	458
14.	2,070	›	24 ›	—	—	10	267	34	214
15.	1,980	›	48 ›	—	—	—	26	—	48
16.	2,230	›	72 ›	—	—	—	4	—	2

III. Bacterium

17.	1,950	1 mg	5 Min.	—	—	57	23,328	80,560	26,400
18.	2,000	›	1 Std.	—	—	—	880	14,048	4,880
19.	2,400	›	6 ›	—	—	—	400	1,248	2,336
20.	2,200	›	12 Stdn.	—	—	—	25	3,264	3,500
21.	2,300	›	24 ›	—	—	—	—	8	126
22.	2,130	›	48 ›	—	—	—	—	26	Unzahl
23.	1.990	›	72 ›	—	—	—	—	—	—
24.	2,300	0,5 mg	5 Min.	—	—	192	2,480	37,720	6,400
25.	2,250	›	30 ›	—	—	—	322	10,496	7,072
26.	2,050	›	1 Std.	—	—	—	180	1,220	2,400
27.	2,430	›	3 Stdn.	—	—	—	2	100	334
28.	2,000	›	6 ›	—	—	—	6	15	121
29.	2,110	›	12 ›	—	—	—	—	—	—
30.	2,350	›	24 ›	—	—	—	2	18	6
31.	2,150	›	48 ›	—	—	—	—	—	—

aureus.

in 1 cg der Organe Leber	Galle	Niere	Harn 0,1 ccm	Neben-niere	Gehirn	Anmerkung
38,250	—	684	—	364	3	
15,750	—	179	—	216	5	
10,000	—	14	—	207	3	Milz leicht angeschwollen
3,352	—	114	—	173	—	Milz angeschwollen
13	2 (?)	274	—	4	—	Milz angeschwollen.
38	—	1,840	380	11	—	Milz angeschwollen, Harn ganz klar.
zahlreich	—	817	336	—	—	

coli commune.

84,000	—	310	—	522	16	
16,500	—	46	—	236	—	kokkidiös
12,800	—	30	—	90	4	
3,220	3	2	—	50	—	Milz angeschwollen
2,128	—	—	—	64	16	„ „
1,544	zahlreich	—	—	46	1	„ „
24	zahllos	—	—	—	—	„ „
60	172,500	—	—	—	—	
31	—	—	—	—	—	

typhi.

150,800	—	2,136	—	1,312	60	
7,300	—	20	—	232	18	
1,856	—	—	—	32	5	Milz angeschwollen
1,640	—	50	—	—	—	„ „
160	—	—	120,000	5,500	—	Milz angeschwollen, und blutige Schwellung der Nebenniere
116	Unzahl	384	2,014	222	—	„
—	—	—	—	—	—	
37,756	—	348	—	140	50	
39,000	—	24	—	320	20	
8,430	—	9	—	85	8	
42	—	—	—	6	—	Milz leicht angeschwollen
80	—	2	—	10	—	Milz angeschwollen
—	—	—	—	—	—	„ „
6	—	—	—	2	—	Milz stark angeschwollen
—	—	—	—	—	—	

gelangen oder besser attrahiert werden. Die in das Knochenmark gelangten Bakterien vermindern sich mit der Zeit, so dafs dasselbe schliefslich keimfrei gefunden wird, falls das Versuchstier nicht stirbt.

Leber.

Die Leber, welche die gröfste aller Drüsen ist und physiologisch in bezug auf die Zusammensetzung des Blutes den blutbereitenden Drüsen sehr nahe steht, spielt auch in der Bakteriologie eine wichtige Rolle, wie die Milz und das Knochenmark. Früher wurde allgemein ihr Bakterienvernichtungsvermögen weit hinter dem der Milz sowie des Knochenmarks gestellt. So hatte Canon nämlich das Resultat der Arbeiten anderer Forscher aufgefafst; die Vernichtung von ins Blut eingedrungenen Bakterien fände besonders in den Kapillaren der blutbildenden, nukleinreichen Organe, in erster Linie des Knochenmarks und der Milz, dann der Leber statt. Die nach der intravenösen Injektion in die Leber angezogenen Bakterien sind in relativer Zahl, der Gröfse des Organs gemäfs auch in absoluter Zahl, denjenigen der Milz und des Knochenmarks überlegen; meiner Meinung nach wird der gröfste Teil der ins Blut geschickten Bakterien von der Leber angezogen und hier getötet (wenn auch nicht immer vollkommen). Ich möchte hier bemerken, dafs bei diesem Verfahren die Bakterienverteilung in die Organe keineswegs mit dem Zuflusse des arteriellen Blutes parallel, sondern durch eigenes Attraktionsvermögen jedes einzelnen Organes stattfand. Wenn auch die Leber sehr reich an Blut und Blutkapillaren ist, so ist sie doch nicht reich an dem arteriellen, mit den Bakterien beladenen Blute, sondern an dem vermutlich nicht beladenen Portaderblut. Die Leber ist deshalb imstande, durch arterielles Blut nicht so viel Bakterien in sich verteilt zu bekommen. Das Bakterienattraktionsvermögen der Organe entspricht auch immer ihrer Vernichtungsfähigkeit, die sie besitzen.

Auch die Vernichtung findet nicht in den Organkapillaren statt, wie Canon und andere gesagt, sondern in dem gröfsten Mafse im Parenchym — in den Zellen des Organes selbst. Wenn

die Bakterien bis zur vollkommenen Zerstörung stets in dem Zirkulationsbezirke (Kapillaren) geblieben wären, so würden sie sich in dem Blute noch weit später konstatieren lassen, als es von mir geschehen ist. Die Tatsache, daſs in den Schnittpräparaten der Leber und der Milz der 5 Minuten und 30 Minuten nach der Injektion getöteten Tiere die Bakterien reichlich in dem Zelleib eingeschlossen sind, läſst sich leicht beweisen.

Galle.

Daſs sich bei Typhuserkrankung die Bakterien in früheren Stadien im Blute, in späteren in Harn und Kot, bei der Obduktion der Typhusleiche auch reichlich in der Galle konstatieren lassen, ist eine bekannte Tatsache. Das ist nun der Beweis, daſs es sich beim Typhus abdominalis um eine Bakteriämie erzeugende Erkrankung handelt, und daſs die Typhusbazillen aus dem Blute in die Leber, dann auch unter gewissen Umständen in die Gallenblase gelangen, sich vermehren und von dort aus mit Galle in den Darmtraktus ausgeschieden werden können. Denselben Verlauf kann man auch leicht aus meiner Tabelle erkennen. Koli- und Typhusbazillus, wohl auch andere Darmbakterien, wie Dysentheriebazillus und Choleravibrio, welche in der Leber ausnahmsweise überlebten, gelangen in die Gallenblase und können sich hier rasch vermehren, während Staphylokokkus sich niemals in der Galle konstatieren lieſs. Auch pathogene Streptokokken, Heu-, selbst Pestbazillus kommen nie in der Galle vor; dafür sprach wohl das Resultat meiner früheren Arbeit, die aus bestimmten Gründen nicht veröffentlicht wurde.

Niere.

Die Art und Weise, auf welche der Organismus sich der in sein Blut eingedrungenen Schmarotzer entledigt, beschränkt sich nicht nur auf die Abtötung und Zerstörung in den verschiedenen Organen, sondern die Absonderungsorgane wirken dabei mit, besonders die Niere, indem sie die Bakterien wieder herausschaffen.

Es zeigt sich, daſs die Bakterien in verhältnismäſsig geringerer Menge in die Niere angezogen und wie in anderen Organen entweder teilweise oder gänzlich vernichtet werden; es sammeln sich aber nachher überlebende Bakterien von anderen Organen hier im Ausscheidungsorgan an, wobei die Eindringlinge zuerst auch im

Urin

vorkommen, was aber bei einer geringeren Injektionsmenge nicht der Fall ist. Das Vorkommen der Bakterien im Urin steht mit Befunden bei infektiös erkrankten Menschen, insbesondere beim Typhus abdominalis, im besten Einklang. H. Neumann, der zuerst derartige Befunde veröffentlicht hatte, war der Meinung, die völlig normale Niere lasse Bakterien nicht durch, sondern dazu wäre es nötig, daſs pathologische Veränderungen in den Nieren vorliegen müſsten — wenn auch nur geringerer Art —, wenn Bakterien aus dem Blute in den Urin übertreten wollten. Mit dem Resultate von F. Rolly stimmt mein Ergebnis in der Hauptsache überein. Daſs bei gesunden Tieren jedoch, wie er gesagt, sich die Bakterien bereits nach wenigen Minuten im Harn kulturell nachweisen lassen, ist nur seltene Ausnahme; denn ich hatte, wie man sieht, bei meinen Experimenten niemals vor dem Verlaufe von 12 Stunden die Bakterien im Urin nachweisen können.

Nebenniere.

Vor Jahren hatte ich erfahren, daſs bei der allgemeinen Infektion, besonders bei Pest des Meerschweinchens, manchmal auch bei Pneumonie des Kaninchens, die Nebenniere eine Unzahl Bakterien in sich enthält. Und ich bin seither der Meinung, daſs die Nebenniere eine Krankheitserreger vernichtende Wirkung habe, um so mehr ich auch damals gelesen hatte, daſs Schaudin und Babes in mehreren Fällen von kongenitaler Lues gerade in diesem Organe die Spirochäten am zahlreichsten gefunden hatten und der erstere danach sie für ein phagozitäres Organ hält. Bei meinem Experimente ist die Zahl der darin angezogenen Bakterien verhältnismäſsig groſs, wird aber meist

mit der Zeit geringe. 24 und 48 Stunden nach der Injektion von 1 mg Typhusbazillus zeigten die Nebennieren eine hochgradige Hyperämie und Vergröfserung und enthielten viel Bakterien. In Schnittpräparaten solcher Nebennieren konnte ich ganz zerstreute, kleine Bakterienanhäufungen in der Marksubstanz konstatieren.

Gehirn.

Am wenigsten gelangen die Bakterien ins Gehirn. Die Bedeutung des Gehirns für Bakterienvernichtung steht allen andern Organen nach.

Muskel und Rückenmark habe ich nicht zum Objekt der Untersuchung gemacht, denn ich bin der Meinung, dafs die Vernichtung der Bakterien fast lediglich in den drüsigen, nukleinreichen Organen stattfindet. Das beweist auch der negative der Befund am Gehirn.

Zusammenfassung.

1. Im Blute verschwinden die Bakterien ziemlich rasch. Schon 5 Minuten nach der Injektion lassen sie sich nur sehr selten und eine halbe Stunde nachher fast gar nicht mehr nachweisen.

2. Das Bakterienattraktionsvermögen der Organe ist ganz verschieden. Es wird nicht proportional mit dem Zuflusse des arteriellen, mit Bakterien beladenen Blutes ausgeübt. Die Bakterien werden relativ (Bakterienzahl in 1 cg der Organe), demgemäfs auch absolut (Bakterienzahl im ganzen Organ) am meisten in die Leber abgelagert, demnächst in die Milz und das Knochenmark. Die Niere, wenn reichlicher Blutzuflufs stattfindet, nimmt anfänglich nur wenig Bakterien auf.

3. Die Vernichtung der Bakterien findet je nach dem Verhältnis der Attraktion statt und wird in ganz vortrefflicher Weise in der Leber ausgeübt.

4. In der Galle kommen die Darmbakterien mehr als zehn Stunden nach der Injektion vor und können sich hier rach vermehren, was aber bei geringerer Menge von eingespritzten Bakterien und bei nicht darmparasitären Mikroben nicht der Fall ist.

5. Im Harn werden die Bakterien erst nach Stunden nachgewiesen.

6. Die Brust- und Bauchhöhle erwiesen sich immer keimfrei.

Zum Schlusse möchte ich meinem hochverehrten Direktor Herrn Prof. A. Sata für seine liebenswürdige Leitung und Anregung bei dieser Arbeit meinen wärmsten Dank aussprechen.

Literatur.

1. Canon, Die Bakteriologie des Blutes bei Infektionskrankheiten, 1905.
2. Daels, Tijdschr. voor Gendsk. Nr. 20.
3. Liebermeister, Virchows Archiv, 1909.
4. Müller, Infektion und Immunität, 1909.
5. Neufeld, Zeitschr. f. Hygiene XLIV. 2.
6. Peiser, Brunssche Beitr. z. kl. Chir. Bd. 55 Heft 2.
7. Rolly, Münch. med. Wochenschr. Nr. 37, 1909.
8. Schaudin, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, Bd. 26, 1907.

Sekretion, Kochsalzgehalt und Reaktion des Schweißses.

Von

stud. med. **C. Kittsteiner**, Würzburg.

(Aus dem Hygienischen Institut, Würzburg.)

I. Einleitung.

Im Jahre 1890 erschien in dem Archiv für Hygiene eine Arbeit von Eduard Cramer in Marburg, mit dem Titel: »Über die Beziehung der Kleidung zur Hauttätigkeit«. — In dieser Arbeit hat der Verfasser bei seinen Untersuchungen über die Zusammensetzung des Schweißses ziemlich gleichmäßsige Kochsalzwerte gefunden und daraufhin angenommen, daßs der Kochsalzgehalt des Schweißses konstant sei. Er schloßs dann weiter, daßs man also aus den aus der getragenen Wäsche und von der Haut abgewaschenen Kochsalzmengen mit hinreichender Genauigkeit auf die sezernierten Schweißsmengen schließsen könne. Diese Methode bildet die Grundlage zu Cramers oben genannter Arbeit, und eine nicht geringe Anzahl anderer Autoren machte sich die Bequemlichkeit seiner Methode bei ihren Untersuchungen zunutze.

Indessen, da aus der Cramerschen Arbeit selbst hervorgeht, daßs es fraglich ist, ob seine Annahme absolut richtig sei (denn es schwankte der Kochsalzgehalt mit den Versuchsbedingungen doch nicht unerheblich), und da ferner in Arbeiten anderer Autoren über ähnliche Themata die Ergebnisse nicht ganz übereinstimmten, schien es angebracht, von neuem mit Untersuchun-

gen über den Kochsalzgehalt des Schweifses zu beginnen und einige andere hierhergehörige Punkte einzubeziehen. Herr Prof. Dr. K. B. Lehmann regte mich deshalb zu einer Bearbeitung des obigen Themas an.

II. Methoden.

Es gab zwei Möglichkeiten meine Untersuchung, auszuführen. Einmal hätte ich die von der Haut ausgeschiedenen Wassermengen und Kochsalzmengen getrennt voneinander bestimmen können, um dann den Kochsalzgehalt des Schweifses zu berechnen — eine Methode, welche z. B. Schwenkenbecher und Spitta anwandten — oder ich konnte durch Schwitzversuche direkt den von den betreffenden Körperteilen abgelaufenen Schweifs sammeln und einer Analyse unterziehen. Ich wählte den letzten Weg, wobei es mir darauf ankam, den natürlichen Bedingungen möglichst nahezukommen.

Hierzu bot sich mir eine günstige Gelegenheit, denn ich konnte in dem hygienischen Institut in Würzburg einen Raum benutzen, welcher sich mit einem Gasofen beliebig stark heizen liefs.

Die meisten Versuche stellte ich an mir selbst, erst in zweiter Linie an drei Kandidaten der Medizin an — den Herren Dieden, Scheidemann und Schlofs danke ich an dieser Stelle für ihre liebenswürdige Unterstützung.

Der Schweifs der zu untersuchenden Körpergegenden wurde in Glasgefäfsen aufgefangen, welche an den Körpern mittels einer Gummimembran locker, aber luftdicht anschlossen. Diese Glaszylinder haben vor dem von Schottin angegebenen Guttaperchabeutel den Vorteil, dafs man sie leichter und sicherer reinigen kann, und dafs sich die Vorgänge in ihrem Innern leicht beobachten lassen.

Gewöhnlich wurde der Versuch auf eine Stunde ausgedehnt.

Es sammelte sich dann am Boden der Gefäfse der »Schweifs« an; im rein physiologischen Sinne versteht man unter Schweifs zwar nur das aus den Knäueldrüsen der Haut austretende Sekret. Allein die technischen Schwierigkeiten, dasselbe von allen

Beimengungen gesondert zu erhalten, sind so grofs, dafs bis jetzt immer nur ein Gemenge von echtem Schweifs, Hauttalg und Wasser, welches aus der Epidermis ausgeschieden wurde, erhalten und untersucht werden konnte. Auch meine Untersuchung befafst sich ausschliefslich mit diesem Gemisch. Der Deutlichkeit halber bringe ich hier noch die diesbezügliche, von Schottin angegebene Einteilung:

Schweifs- { Sudor (Sekret der Knäueldrüsen),
Hauttalg (Sekret der Hauttalgdrüsen),
Perspiratio insensibilis (ausgeschiedenes Wasser der Epidermiszellen).

Die erhaltenen Schweifsmengen wurden dann mafsanalytisch untersucht. Ein Teil wurde nach Mohr, ein anderer Teil nach der Methode von Volhard-Salkowsky titriert. Hierzu wurde eine Silbernitratlösung benutzt, von der ein Kubikzentimeter einem Milligramm Chlor entspricht. Wenn grofse Mengen untersucht wurden, bediente ich mich wohl auch einer $^1/_{10}$ Normal-Silbernitratlösung. Um eine leichte Vergleichung meiner Resultate mit den Zahlen anderer Arbeiten zu ermöglichen, wurden die Chlormengen auch auf Kochsalz berechnet.

Vor jeder Schwitzprozedur wurden die betreffenden Körperteile mit destilliertem Wasser sorgfältig gereinigt und dann abgetrocknet. Die Lebensweise und Nahrung der Versuchspersonen war regelmäfsig.

Die Schweifsmengen wurden gewogen. Die in den Glasgefäfsen nach Ausgiefsen des Schweifses zurückgebliebenen Mengen wurden für die einzelnen Gefäfse als konstante Gröfsen betrachtet und auf Grund genauer Bestimmung in Rechnung gebracht.

Meine Versuche erstrecken sich auf die Zeit von November bis März.

Zur Untersuchung kamen 38 Schweifse vom Arm, davon 8 unter gleichen Bedingungen; 20 vom Gesicht, davon sind 17 wegen Verdunstung zur NaCl-Bestimmung unbrauchbar. Bei den übrigen 3 war eine Verdunstung ausgeschlossen, da hier

die Schweifse unter Glasgefäfsen aufgefangen wurden. Die Mengen hingegen konnten bei den 20 Versuchen richtig berechnet werden (aus Tabelle IX S. 298). 6 Versuche hatten die gleichen Bedingungen. — Vom Unterschenkel wurden 4 Schweifse untersucht, davon 2 unter gleichen Bedingungen.

Der Kochsalzgehalt, besonders aber die Sekretion des Schweifses ist nun, wie teilweise schon die allgemeine Erfahrung lehrt, abhängig von den verschiedensten Umständen. Um deutliche Resultate zu erhalten, mufsten die einzelnen Faktoren, welche möglicherweise Sekretion und Konzentration beeinflussen konnten, möglichst isoliert betrachtet werden.

III. Die Sekretion des Schweifses.

Für gewöhnlich findet an den meisten Stellen der Haut keine merkliche Sekretion statt. Diese wird unter normalen Bedingungen durch Muskeltätigkeit, erhöhte Temperatur der Luft und vermehrte Luftfeuchtigkeit hervorgerufen.

a) Die Sekretion als Funktion der Temperatur.

Die allgemeine Erfahrung zeigt, dafs man bei höheren Temperaturen mehr Schweifs absondert als bei niederen. Experimentell wurde dies bestätigt durch Arbeiten von Erismann, Reinhard, Rubner, Rubner und Cramer, Schierbeck, Spitta, Weyrich und Wolpert. Schierbeck fand, »dafs zwischen 30° und 39° die gesamte Wasserausscheidung der Haut so ziemlich proportional der Temperatur anwächst.«

Klee gibt aufserdem speziell an, dafs proportional der Temperatur die sezernierten Schweifsmengen ansteigen. Auch meine Versuche geben häufig bei hohen Temperaturen auch mehr Schweifs, aber ebensooft das Gegenteil, wie die Tabelle I zeigt.

Der linke Arm wurde bis zum Deltoideusansatz in einen der besprochenen Glaszylinder gebracht. Während der einstündigen Versuche safs ich in dem verschieden stark geheizten Raum, wobei ich mich möglichst ruhig verhielt. Bei allen diesen Versuchen war die Luftfeuchtigkeit von mir durch Wasser-

verdampfen reguliert und ihre Gröfse mit einem Hygrometer bestimmt worden.

Tabelle I.
Versuchsdauer 1 Stunde.

Datum	Temperatur ° C	relative Feuchtigkeit % H_2O	erhaltene Schweifsmengen cm³	Datum	Temperatur ° C	relative Feuchtigkeit % H_2O	erhaltene Schweifsmengen cm³
24. XI. 1909	26,0	—	5,0	10. III. 1910		80	8,6
20. XI.	29,0	—	5,0	11. III.		60	7,5
1. XII.	31,0	75	14,0	12. III.	36,0	60	4,0
9. XII.	31,0	80	10,2	15. III.		65	5,5
14. III. 1910	34,5	83	8,0	16. III.		65	3,0
18. III.	35,5	60	2,4	16. II.	36,5	89	8,5
13. I.		88	17,0	28. II.	36,5	55	7,0
5. II.		75	5,5	19. I.	39,5	87	20,0
10. II.	36,0	20	2,0	26. I.	41,0	77	15,0
3. III.		60	7,0	16. III.	41,0	55	9,1
8. III.		65	4,0	22. I.	44,0	87	23,0

Wenn man die Angaben der Tabelle I graphisch aufzeichnet, wie es in Kurventafel II (s. S. 280) geschehen ist, so sieht man leicht, dafs hier von proportionalem Ansteigen der Sekretion mit der Temperatur keine Rede sein kann. Natürlich kann ich mit meinen Versuchen am Arm nichts darüber aussagen, wie sich die Schweifsabgabe vom ganzen Körper bei verschiedenen Temperaturen gestaltet.

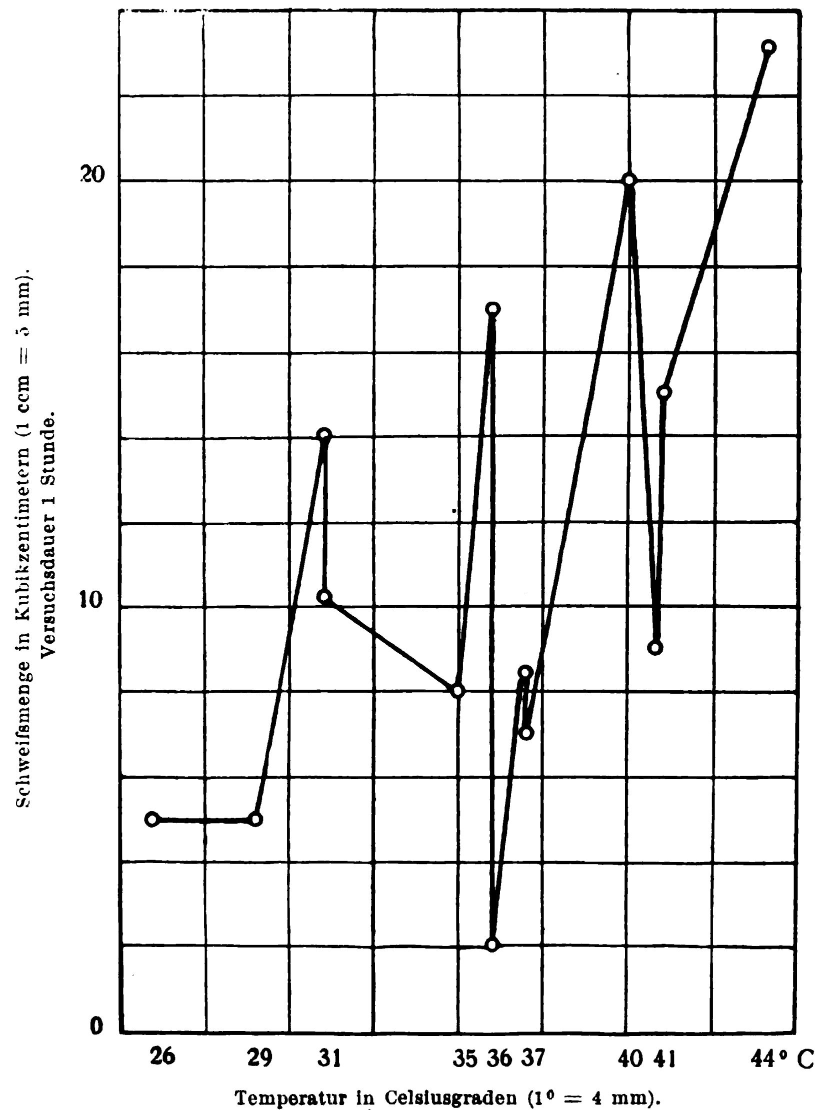
Aus der Tabelle und aus Kurventafel IV (S. 285) sieht man vielmehr, dafs auch unter den gleichmäfsigsten Bedingungen immer noch bedeutende Schwankungen der Sekretion eintreten können. Auch Cramer erhielt, freilich unter anderen aber ebenfalls gleichen Versuchsbedingungen, Schwankungen von 21,3 bis 31,0 ccm. Es spielen eben hier, wie wir noch sehen werden, verschiedene andere, auch psychologische Momente eine grofse, oft ausschlaggebende Rolle.

Wohl mufs mit Trümpy und Luchsinger zugegeben werden, dafs bei grofsen Temperaturdifferenzen im allgemeinen zu der höheren Temperatur auch eine gröfsere Schweifsmenge gehört. Diese beiden Forscher zeigten nämlich durch subkutane

Pilokarpininjektion und durch Reizung des Plexus brachialis mit tetanisierenden Strömen, dafs man bei gleichem Reiz verschiedene Schweifsmengen erhält, je nach der Temperatur, welche die umgebende Luft hatte. Dieselbe Erscheinung zeigte sich auch nach verschieden temperierten Vollbädern.

Kurventafel II.

Beziehungen der Aufsentemperatur zur Sekretionsgeschwindigkeit des Schweifses.



Nach meinen Versuchen haben geringe Temperaturdifferenzen keinen wesentlichen Einflufs. Erst Unterschiede von etwa 5° werden durch Veränderung der Schweifssekretion bemerkbar.

b) Die relative Feuchtigkeit der Luft. — Die Muskeltätigkeit.

Die Wirkung der Temperatur tritt viel deutlicher hervor, wenn die Luft immer dieselbe Wasserdampfmenge enthält. Schwankungen der Luftfeuchtigkeit verwischen den Einflufs der Temperatur einigermafsen.

Um diese Verhältnisse zu untersuchen, wurde wieder, wie oben bei ruhigem Verhalten, in dem geheizten Raum vom linken Arm Schweifs gesammelt. Der Arm befand sich in jedem Versuch sehr bald in einer Atmosphäre, die mit Wasserdampf gesättigt war. Dagegen wechselte der Wassergehalt der Zimmerluft, je nachdem ich Wasser in dem Versuchsraum versprengte oder nicht, sehr erheblich.

Wie man aus Tabelle III (die Zahlen sind Mittelwerte von 12 Versuchen) sieht, erhielt ich bei derselben Temperatur um so mehr Schweifs, je feuchter die Luft war. Ähnliche Unterschiede zeigte der vom Gesicht gesammelte Schweifs.

Tabelle III.
Versuchsdauer 1 Stunde.

Temperatur	relative Feuchtigkeit	erhaltene Mengen	
		vom Gesicht	vom Arm
36° C	20% H_2O	0,0 ccm	1,6 ccm
36 »	50 » »	1,9 »	5,9 »
36 »	80 » »	5,5 »	8,7 »

Wie man sieht, ist ein gewisser Betrag von Luftfeuchtigkeit — wenigstens bei mittleren Temperaturen (36° C) — Bedingung für das Zustandekommen der Schweifssekretion. So konnte ich einmal bei 36° C nicht zum Schwitzen kommen, als die Luft

nur 10% Feuchtigkeit hatte. Dies erklärt sich aus Angaben von Erismann, Rubner, Rubner und Lewaschew, und Wolpert, welche bewiesen, dafs bei gleicher Temperatur die Wasserdampfabgabe der Haut um so kleiner wird, je gröfser die relative Luftfeuchtigkeit ist. Nach Rubner tritt nun bei erhöhter relativer Luftfeuchtigkeit infolge verminderter Wasserdampfabgabe der Haut, Wärmestauung ein, wodurch die Schweifssekretion angeregt wird.

Differenzen von 10% relativer Feuchtigkeit zeigen gerade eine geringe Wirkung.

Den vorhergehenden Ausführungen zufolge erhält man die stärksten Wirkungen, wenn hohe Temperatur und grofse Luftfeuchtigkeit zusammen auf den Organismus einwirken. Dazu ermöglicht dann noch die hohe Luftfeuchtigkeit durch bessere Wärmeleitung eine intensivere Einwirkung der Wärme auf den Körper, wenn die Lufttemperatur die des Körpers übertrifft.

Dies erklärt auch, warum man bei warmen Vollbädern sehr grofse Schweifsmengen bei Temperaturen über 36° C erhält, welche als Lufttemperatur bedeutend geringere oder noch keine Wirkung zeigen. Während ich z. B. bei 40° C beim Aufenthalt in der Luft vom Arm im Maximum 20 ccm Schweifs erhielt, bekam ich bei einem Vollbadversuch bei derselben Temperatur und in derselben Zeit 52 ccm. Hier wirkte infolge der völlig unterdrückten Wasserdampfabgabe und der starken Wärmezuleitung die Wärmestauung ein.

Umgekehrt zeigte Spitta bei Vollbädern unter 37°, dafs diese dem Körper durch gute Leitung Wärme entziehen. Er fand, dafs die untere Grenze für die sichtbare Schweifsbildung im Wasser 4 bis 5° höher liegt als in der Luft.

Die Muskeltätigkeit hat eine ganz ähnliche Wirkung wie starke Erhöhung der Luftfeuchtigkeit oder ein Vollbad. Dies stimmt wieder zu Ausführungen von Funke, Rubner, Rubner und Cramer, Pettenkofer und Voit, und pafst zu der Vorstellung, dafs die Schweifssekretion eine Mafsnahme des Körpers zur vermehrten Wärmeabgabe darstellt. — Die enorme

Wirkung der Muskeltätigkeit geht aus dem Folgenden hervor: Bei 36° C und 50% Luftfeuchtigkeit erhielt ich in einer Stunde sonst im Durchschnitt vom Arm 6 ccm. Als ich aber während der Versuchszeit unter gleichen Aufsenbedingungen andauernd rasch umherlief und dabei einen ziemlich schweren und unhandlichen Gegenstand trug, erhielt ich 40 ccm.

c) Die zentrale Beeinflussung der Schweifssekretion.

Die Tatsache, dafs in der Regel nur am ganzen Körper Schweifsausbruch beobachtet wird, und dafs psychische Vorgänge von Tätigkeit der Hautdrüsen begleitet sein können, weist schon allein darauf hin, dafs die Schweifssekretion zentral beeinflufst wird. Einen direkten Einflufs des Nervensystems zeigten Kendall und Luchsinger dadurch, dafs sie bei Reizung des Nervenstammes einer Extremität Schweifssekretion erhalten konnten. Dasselbe gelang auch an Gliedmafsen, welche vom Körper abgetrennt waren. Daraus geht hervor, dafs die Sekretion von vasomotorischen Einflüssen unabhängig sein kann; indes ist sie jedenfalls — wie die Speichelsekretion ja auch — mit Erweiterung der Blutgefäfse verbunden, denn Luchsinger zeigte, dafs die Bahnen der Schweifsnerven mit denen der gefäfserweiternden Nerven übereinstimmen. — Cramer zeigte durch direkte Versuche, dafs es nur schwer gelingt, Schweifssekretion an einer Extremität durch lokales Erwärmen derselben hervorzurufen. Erst wenn sich der ganze Körper in zu hoch temperierter Umgebung befand, erfolgte, wie am ganzen Körper, so auch an der Extremität Schweifsausbruch. — Ich selbst stellte auch solche Versuche an und liefs Wärmestrahlen auf die Gliedmafsen allein einwirken. Dabei erhielt ich, wenn die Erwärmung sehr stark war und lange genug dauerte, Schweifsausbruch — aber am ganzen Körper und niemals an der bestrahlten Ex-tremität allein.

Es ist also weder Cramer noch mir gelungen, lokale Sekretion ganz allein hervorzurufen. Immer trat dabei ein, wenn auch geringer Schweifsausbruch am ganzen Körper auf. Diese Tatsachen machen es wahrscheinlich, dafs es über-

haupt keine Schweifssekretion gibt ohne zentrale Erregung.

Besonders stark war die Wirkung, wenn heifse Luft auf das Gesicht einwirkte (Trigeminus) Obgleich der Körper sich in normal temperierter Luft befand und selbstverständlich gegen Einwirkung der Wärmestrahlen geschützt war, erfolgte Schweifsausbruch am ganzen Körper. — Es scheint mir die Wirkung eines Fächers, mit dem man ja nur die Haut des Gesichtes abkühlt und trotzdem eine allgemeine Abkühlung wahrnimmt, ebenfalls hierher zu gehören.

Der zentrale Angriffspunkt der Schweifsnerven liegt im Rückenmark, welches unter Einwirkung von Hitze, Dyspnoe und gewissen Giften Sekretion einleitet, auch wenn das Gehirn abgetrennt ist (Luchsinger). Höhere Zentra befinden sich nach Hermann in der Medulla oblongata. Damit stimmen auch meine Beobachtungen über Einwirkung der Hitze auf das Gesicht überein (Lage der Trigeminus-Kerne). Andere Zentra liegen im Grofshirn, was durch die psychischen Schweifse erwiesen wird.

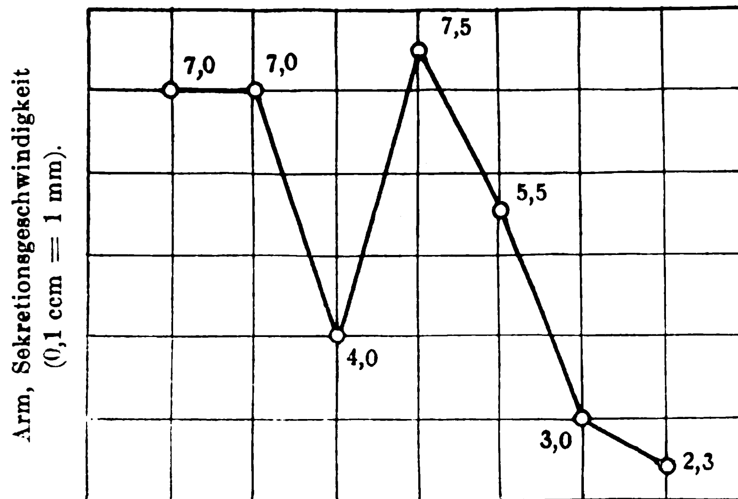
d) Die Schwankungen der Sekretion bei gleichen Aufsenbedingungen. — Beziehung zur Nierentätigkeit. — Psychologische Momente.

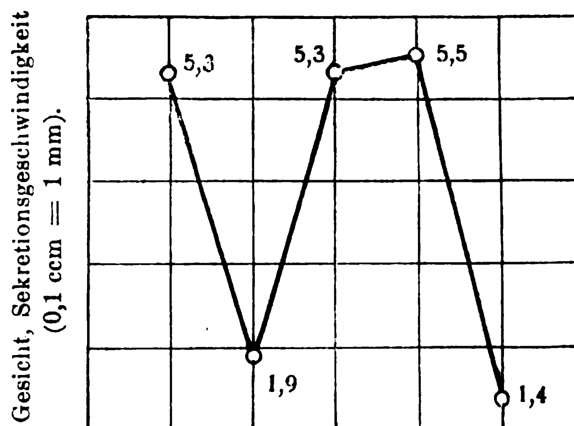
Bei allen Versuchen, welche ich an mir und anderen Personen anstellte, erhielt ich — auch wenn die Bedingungen noch so gleichmäfsig waren — nie konstante Werte, sondern sehr verschiedene Schweifsmengen. Die diesbezüglichen Zahlen kann man in Kurventafel IV dargestellt sehen. Von den verschiedenen Körperteilen konnte ich Schwankungen in der Absonderungsgeschwindigkeit beobachten, welche einander annähernd parallel laufen. Ebenfalls unregelmäfsige Resultate hatten andere Autoren: Ardin-Delteil sammelte Schweifs von Personen, welche in einem mit heifser Luft erhitzten Blechkasten safsen, wobei nur der Kopf aus der

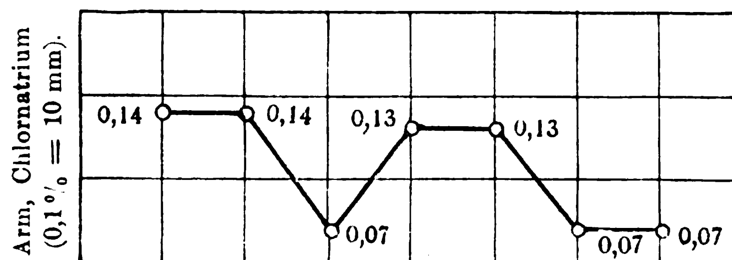
(Fortsetzung des Textes S. 286.)

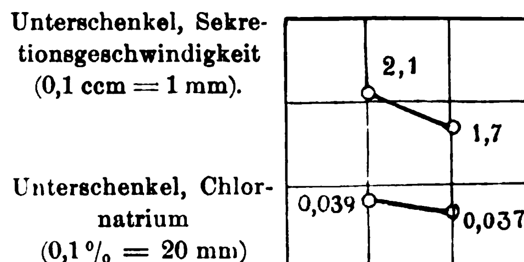
Kurventafel IV.

Sekretionsgeschwindigkeit und Kochsalzgehalt des Schweifses verschiedener Hautgebiete bei gleichen Versuchsbedingungen (Temperatur 36° C; relative Luftfeuchtigkeit 60%). — Versuchsdauer 1 Stunde.









Datum der Versuche: 28. II. 3. III. 8. III. 11. III. 15. III. 16. III. 18. III. 1910.

Vorrichtung heraussah. Es wurden Schwankungen von 80 bis 800 ccm gefunden. Bei Vollbadversuchen erhielt Cramer unter ganz gleichmäfsigen Bedingungen vom Arm seiner Versuchsperson Mengen von 21,3 bis 31,0 ccm. Derartige Schwankungen können teilweise ihren Grund in ungleichmäfsiger Nierentätigkeit haben. Denn sowohl aus Schottins als auch aus meinen Versuchen geht hervor, dafs die sezernierten Harn- und Schweifsmengen in annähernd reziprokem Verhältnis stehen, eine Wahrnehmung, die auch durch die allgemeine Erfahrung bestätigt wird. — Wird durch irgendwelche Einflüsse die Diurese sehr vermehrt, so kann eine Schweifssekretion sogar ganz unmöglich werden. Als ich z. B. nach Einnahme von 50 g Kochsalz einen Schwitzversuch machen wollte, konnte ich, trotzdem ich die Temperatur im Versuchsraum bis zu 39° C. steigerte, bei 70 % Luftfeuchtigkeit nicht zum Schwitzen kommen. Dagegen hatte ich starken Harndrang, und aufserdem stellten sich noch Diarrhöen ein. Die Haut fühlte sich auffallend trocken an.

Einen anderen recht bedeutenden Einflufs bilden psychische Momente. Aufmerksamkeit und Suggestion spielen eine grofse Rolle. So hat z. B. Lesen während des Versuchs eine verminderte Schweifssekretion zur Folge, während das Umgekehrte der Fall ist bei Konzentration der Aufmerksamkeit auf den Vorgang. — Die plötzlich auftauchende Befürchtung: heute erhalte man keinen Schweifs oder zur Untersuchung nicht genügende Mengen, beeinflufst zweifellos die Sekretion ungünstig, ebenso wie auch das Umgekehrte der Fall sein kann. Dahin gehört auch die Angabe, welche von Versuchspersonen oft gemacht wird, dafs nämlich das absichtiche Schwitzen gar nicht so leicht sei, wie man annehmen sollte.

Die Versuchsperson hat das Bewufstsein, als ob unter gleichen Bedingungen eine Gewöhnung an die hemmenden psychischen Einwirkungen und damit verbunden eine erhöhte Sekretion sich mit der Zeit einstellte. In der Tat bestätigen dies die Versuchsresultate.

Diese Angaben sind mir objektiv von drei Kandidaten der Medizin gemacht worden, unabhängig voneinander und ohne dafs ich sie befragte.

Tarchanoff konnte nachweisen, dafs fast alle Vorgänge der Nerven- oder psychischen Tätigkeit von Hautströmen und erhöhter Funktion der Hautdrüsen begleitet sind.

Zudem können psychische Vorgänge auch die Nierentätigkeit beeinflussen, deren Bedeutung hinwiederum oben schon beschrieben wurde.

Man sieht also, dafs die psychischen Momente einen sehr bedeutenden und sehr mannigfachen Einflufs auf die Schweifssekretion haben können, einen Einflufs, dessen Bedeutung in ihrer ganzen Gröfse selten genug völlig gewürdigt wird.

e) Einflufs der Versuchsdauer.

Bei der Untersuchung war wiederum der linke Arm bis zum Deltoideus-Ansatz in einen Glaszylinder gebracht. Die Versuchsperson befand sich in einem Raum mit 36° C Lufttemperatur und einer relativen Feuchtigkeit von 60 %. — Zuerst dauerte es etwa 10 Minuten, bis Schweifsausbruch eintrat, dann wurde ziemlich viel Schweifs ausgeschieden. In der ersten halben Stunde erhielt ich 2 ccm; dann sank die Sekretion bedeutend herab, denn ich erhielt nach der zweiten halben Stunde nur 0,7 ccm. Im weiteren Verlauf nahm die Sekretion rasch ab bzw. hörte sie schliefslich auf; denn nach der dritten halben Stunde war kein Schweifs mehr abgelaufen, die Sekretion also gleich 0.

Diese Wahrnehmung ist für die Beurteilung des Einflusses der Versuchsdauer auf den Kochsalzgehalt des Schweifses von Wichtigkeit, wie wir noch sehen werden.

Im übrigen scheint diese Abnahme der Sekretion nicht von einem Versagen oder einer Erschlaffung der Drüsen herzurühren, denn ich konnte wieder Sekretion einleiten, wenn ich die Temperatur oder die Luftfeuchtigkeit erhöhte. Vielmehr scheint mir

an dem Aufhören der Sekretion eine gewisse Gewöhnung des Körpers an die betreffende Temperatur oder Feuchtigkeit schuld zu sein, was mit meinem subjektiven Empfinden während der Versuche sehr wohl übereinstimmt.

f) Die absolute Schweifsmenge bei leichtem Schwitzen. — Vergleich der Schweifsmengen der einzelnen Körperregionen.

Nach den vorhergehenden Ausführungen ist es schwer, etwas Bestimmtes auszusagen. Immerhin dürften die folgenden Angaben den natürlichen Bedingungen sich am meisten nähern. Ich habe acht Versuche an mir selbst angestellt. Ich befand mich in einem Raum, welcher auf 36° C geheizt war und 60% relative Luftfeuchtigkeit hatte.

Es erfolgte, da ich mich ruhig verhielt, eine nur mäfsige Schweifssekretion, wie sie meinem Gefühle nach im Sommer bei leichter Muskelarbeit, z. B. einem Spaziergang, auftritt, oder in kühler Umgebung bei stärkerer Muskeltätigkeit, z. B. Turnen. Diese Angaben, welche allerdings nur durch mein subjektives Empfinden gestützt sind, werden immerhin auch von anderen Autoren annähernd bestätigt. Schottin promenierte nämlich, mit einem Guttaperchabeutel am Arm, zur Sommerzeit nachmittags umher und erhielt so von einem Arm in der Stunde etwa 5,5 ccm Schweifs, was, wie man aus den Tabellen meiner Arbeit sehen kann, mit meinen Durchschnittswerten übereinstimmte.

Ich erhielt (im Mittel) bei 36° C und 60% relativer Feuchtigkeit bei möglichst ruhigem Aufenthalt in der Luft folgende Mengen Schweifs von den einzelnen Körperteilen im Verlauf einer Stunde:

Tabelle V.

Gesicht	Arm	Unterschenkel
3,7 ccm	6 ccm	1,6 ccm

Wie gesagt, dürften diese Zahlen den natürlichen Verhältnissen am nächsten kommen. Dabei bin ich mir wohl bewuſst, daſs man in der Natur nie ebenso gleichmäſsige Bedingungen erhalten wird. — Leider war es mir unmöglich, noch von andern Körpergegenden die Gröſse der Sekretion zu bestimmen.

Zu Tabelle V sei noch bemerkt, daſs sich die Oberflächen von Gesicht : Arm : Unterschenkel verhalten wie 6 : 12 : 9 (Oberfläche: Gesicht 640 qcm, Arm + Hand 1230 qcm, Unterschenkel + Fuſs 900 qcm).

Es sezerniert also die Haut des Gesichtes am meisten (57,8 ccm pro Quadratmeter), dann folgt der Arm (48,9 ccm), und am wenigsten sezerniert der Unterschenkel (17,7 ccm).

IV. Der Kochsalzgehalt des Schweiſses.

a) Beziehung zwischen Sekretion und Kochsalzgehalt.

Von den Bestandteilen des Schweiſses ist am häufigsten das Kochsalz untersucht worden. Dabei fanden von den zahlreichen Autoren, welche sich hiermit beschäftigten, fast jeder einen andern Wert, so daſs die Angaben der einzelnen Untersuchungen zwischen 0,04 und 0,7 % Kochsalz schwankten. Es wurden deshalb teilweise Vermutungen ausgesprochen, daſs die Methode selbst, nach der Sekretion hervorgerufen wurde, einen direkten Einfluſs haben könnte, teilweise hielt man den Kochsalzgehalt für groſsen Schwankungen unterworfen (Argutinsky), deren Ursachen noch einer Erklärung harrten.

Es möge gleich hier hervorgehoben werden, daſs der Harnstoffgehalt und die Konzentration ähnliche Schwankungen aufweisen sollen, welche denen des Kochsalzes im allgemeinen parallel laufen (Schwenkenbecher und Spitta). Man würde also bei höherem Kochsalzgehalt auch eine stärkere Gesamtkonzentration erhalten.

Als ich selbst mich mit obiger Frage beschäftigte, fand ich um so verschiedenere Werte, je mehr Versuche ich anstellte. Auch die graphische Darstellung meiner Ergebnisse führte mich anfangs nicht zu einer Erklärung, da fast jeder neue Versuch

einer jeden Theorie, welche ich mir bildete, energisch widersprach. Endlich fand ich aber doch aus meinen Kurven die Lösung:

Der Kochsalzgehalt ist von der Sekretion abhängig derart, dafs er um so höher wird, je mehr Schweifs vom Körper in der Zeiteinheit ausgeschieden wurde.

Anstatt langer Ausführungen lasse ich hier meine Versuchsresultate in Tabelle VI folgen.

Tabelle VI.

Datum	Schweifs des Armes		Versuchsbedingungen bei 1stündiger Dauer		Bemerkungen
	Menge ccm	Kochsalzgehalt %	Temperatur ° C	relative Feuchtigkeit %	
20. XI. 1909.	5,0	0,058	29,0	—	
24.	5,0	—	26,0	—	
1. XII.	14,0	0,147	31,0	75,3	
9.	10,2	0,152	31,0	80,7	
18.	5,7	0,170	32,0	—	20 g NaCl eingenommen
20.	5,0	0,108	31,0	—	20 g NaCl eingenommen
13. I. 1910.	17,0	0,240	36,0	88,3	
19.	20,0	0,280	39,5	86,7	
22.	23,0	0,162	44,0	86,7	
26.	15,0	0,167	41,0	76,7	
5. II.	5,5	0,093	36,0	75,3	
10.	2,0	0,175	36,0	20,0	Verdunstung
16.	8,4	0,119	36,5	89,6	
28.	7,0	0,136	36,5	55,0	
3. III.	7,0	0,136	36,0	60,0	
8.	4,0	0,071	36,0	65,3	
10.	8,7	0,109	36,0	80,0	
11.	7,5	0,130	36,0	60,0	1 l Wasser mehr als sonst getrunken
12.	4,0	0,138	36,0	60,0	
14.	8,0	0,141	34,5	83,0	
15.	5,5	0,130	36,0	65,0	
15.	52,0	0,355	39,5	—	Vollbad
16.	3,0	0,071	36,0	65,0	
16.	9,1	0,101	41,0	55,0	
17.	40,8	0,290	34,0	45,0	Muskelarbeit
18.	2,3	0,070	35,5	60,0	
18.	5,0	0,100	36,0	65,0	2 g Salipyrin eingenommen
21.	9,0	0,095	36,0	65,0	4 g Salipyrin eingenommen

Noch deutlicher als die Tabelle spricht die Kurventafel VII, (s. S. 293) in der dieselben Zahlen (mit Ausnahme der Versuche vom 18. u. 20. XII u. 10. II) graphisch eingetragen sind. — Die ziemlich grofsen Schwankungen dieser Kurve werden wesentlich reduziert, wenn man — wie man dies mufs — nur Versuche mit ganz gleichen Bedingungen in Betracht zieht. So sieht man in Tafel IV Kurven, welche die Schwankungen des Kochsalzgehaltes und die Änderungen der Sekretion an den verschiedenen Tagen darstellen. Dieselben berücksichtigen auch, soweit Versuche bei gleichen Bedingungen vorhanden waren, den Schweifs anderer Körperteile. Wie man leicht erkennen kann, laufen die Kurven annähernd in demselben Sinne, was aufs deutlichste für die oben behauptete Beziehung der Sekretion zum Kochsalzgehalt spricht. — Wir haben es also hier mit ganz ähnlichen Verhältnissen zu tun wie bei der Speichelsekretion, wo ja auch gesteigerte Drüsentätigkeit mit Erhöhung der Konzentration verbunden ist.

Zu Tabelle VI sei noch bemerkt: das spezifische Gewicht des Schweifses vom Arm schwankte zwischen 1,0014 und 1,0044. Bei zwei Trockenrückstandsbestimmungen (vom 10. III. und 11. III. 1910) wurden gefunden 0,7836 und 0,7838 %.

Nach Beendigung meiner Arbeit fand ich noch eine Untersuchung von Spitta, deren Ergebnisse erfreulicherweise mit den meinen übereinstimmten. Spitta arbeitete »über die Gröfse der Hautausscheidungen und der Hautquellung im warmen Bade«, und stellte den Kochsalzgehalt im Armschweifs seiner Versuchsperson beim Vollbade fest. Er machte vier Versuche, über deren Resultat er schreibt: »Die Werte liegen genügend nah beieinander, um die Konstruktion einer Mittelzahl zu rechtfertigen = 0,470 % NaCl« .... »Aus den Versuchen selbst ist zu entnehmen, dafs der Kochsalzgehalt innerhalb mäfsiger Grenzen zu schwanken scheint, je nach der Menge des ausgeschiedenen Wassers....«[1]) .... »Will man schliefslich den Einwand machen, dafs ja der Schweifs anscheinend bei verschiedenen Temperaturen verschiedene Konzentration,

1) Von mir gesperrt!

d. h. also auch verschiedenen Chlornatriumgehalt zeigt, so ist darauf zu erwidern, dafs wir ja eine Mittelzahl für unsere Versuche benutzen und es sich aufserdem nicht um geringfügige Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchen, sondern um gröfsere Differenzen handelt«.

Spitta hatte sich also offenbar ein gewisser Zusammenhang von Kochsalzgehalt und Schweifsmenge aufgedrängt, doch ist er der Frage, die von seiner Aufgabe ablag, nicht weiter nachgegangen.

Meiner Ansicht nach lassen sich nun auf Grund dieser Beziehung alle Angaben der Literatur erklären:

Sehr profuse Schweifse erhält man durch heifse Vollbäder, Heifsluftbäder und elektrische Lichtbäder. Infolgedessen erhielten auch Cramer, Harnack und Spitta, die Vollbäder (35—40°) C benutzten, und Camerer jun., Brieger und Distelhorst, die das elektrische Lichtbad (50—60° C benutzten, ferner Straufs, Ardin-Delteil, die das totale Heifsluftbad anwandten (65—73° C), hohe Kochsalzwerte bzw. Konzentration, während hingegen Schottin bei Sommerspaziergängen geringe Schweifsmengen erhielt und geringere Salzmengen fand, was mit meinen Versuchen, soweit sie mit geringer Sekretion verbunden sind, übereinstimmt. — Schwenkenbecher und Spitta untersuchten sehr profuse Schweifse, wie sie z. B. bei Morbus Basedowii auftreten, und fanden eine ziemlich grofse Kochsalzausscheidung.

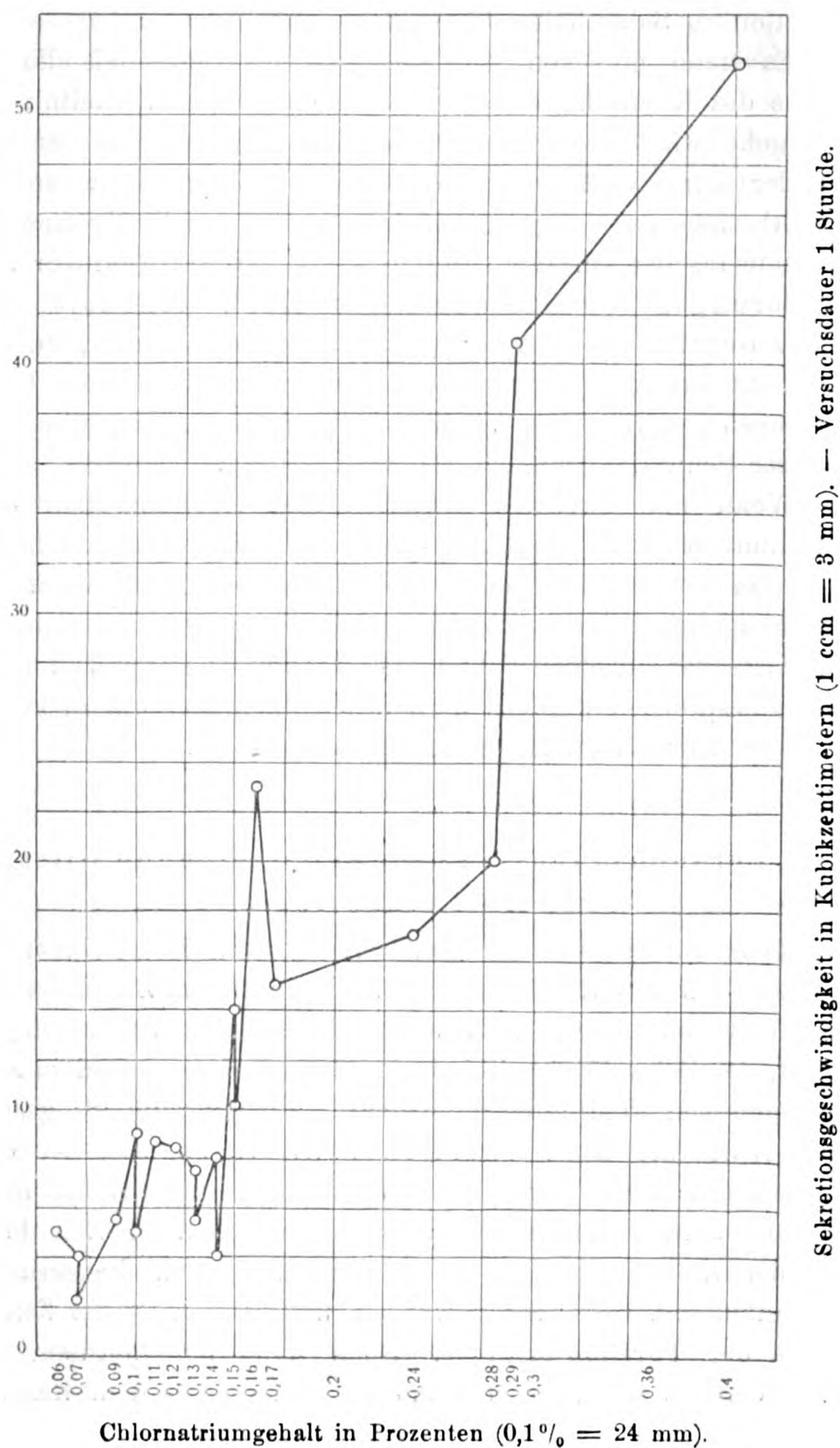
Auf einige Versuche von Cramer, welche hiermit nicht übereinstimmen, werde ich noch zu sprechen kommen. Brieger und Distelhorst fanden bei ihrer ersten Untersuchung Werte von sogar 0,7 % NaCl. Jedoch geben sie in ihrer zweiten Arbeit zu, dafs eine Verdunstung stattgefunden hat.

Leider fand ich in keiner Arbeit genügend viel Angaben über sezernierte Schweifsmengen und ihren Kochsalzgehalt, um eine Kurve daraus konstruieren zu können und sie mit der meinigen zu vergleichen. Jedoch dürfte es sehr wahrscheinlich sein, dafs sich auch die Schwankungen, welche die einzelnen

(Fortsetzung des Textes S. 294.)

Kurventafel VII.

Beziehung der Sekretionsgeschwindigkeit zum Kochsalzgehalt des Schweifses.



Autoren erhielten, durch die oben entwickelte Beziehung von Sekretion zu Salzgehalt erklären lassen.

Es stand nun von vornherein zu erwarten, dafs die Zunahme des Kochsalzgehaltes nicht in demselben Verhältnis vor sich geht wie die der Sekretion. In der Tat spricht der Verlauf der Kurve in Tafel VII dafür; denn während die Gröfsen der Abszisse nur langsam zunehmen, steigen die Gröfsen der Ordinate rascher an. Es scheint also mit wachsender Absonderungsgeschwindigkeit der Kochsalzgehalt sich einer bestimmten Grenze (etwa 0,5 %) zu nähern, welche er nicht mehr überschreitet. Dies stimmt auch mit Beobachtungen von Bogdan überein, welcher die Konzentration sehr profuser Schweifse ziemlich gleichmäfsig fand.

Wenn nun zwischen Sekretion und Kochsalzgehalt eine Beziehung besteht, so müssen offenbar alle Faktoren, welche die Sekretion beeinflussen, auch einen indirekten Einflufs auf den Kochsalzgehalt haben. Die Verhältnisse der Sekretion und die Tragweite der einzelnen Faktoren sind schon im ersten Teil dieser Arbeit besprochen worden, so dafs ich mich hier um so kürzer fassen und auf Ergänzungen beschränken kann.

b) Versuchsdauer und schweifstreibende Gifte; Muskelarbeit.

Es ist interessant zu sehen, welchen Einflufs die Dauer des Versuchs auf den Kochsalzgehalt hat. Zu diesem Zwecke wurde bei 36° C und 60 % Luftfeuchtigkeit ein Schwitzversuch gemacht, der Schweifs des linken Armes aufgefangen und in Zeitabständen von 30 Minuten untersucht. Wie auf Seite 287 gezeigt wurde, nimmt die Sekretion sehr rasch ab, so dafs 1½ Stunden nach Beginn des Versuchs kein Schweifs mehr erhalten werden konnte. Innerhalb dieser kurzen Zeit blieb nun der Kochsalzgehalt ziemlich konstant, d. h. die geringen Schwankungen, die erhalten wurden, fielen innerhalb der Fehlergrenze der Titrationsmethode. Doch habe ich hierüber nur einen Versuch angestellt und möchte deshalb aus dem Resultat

nicht zu viel schliefsen. Es ist immerhin möglich, dafs sich die Sekretion zum Kochsalzgehalt anders verhält als gewöhnlich, wenn durch Reizverstärkung (siehe S. 287) von neuem Sekretion hervorgerufen wird. Diese Verhältnisse bedürfen noch der Aufklärung. Ebenfalls zu wenig Versuche stehen mir in betreff der schweifstreibenden Mittel zur Verfügung. Ich habe zwei 1stündige Versuche mit Salipyrin gemacht, deren Resultate in Tabelle VI eingetragen sind. Die Kochsalzmenge steht in normalem Verhältnis zur Schweifsmenge. Dafs das Mittel im übrigen gewirkt hat, konnte ich an Müdigkeit während der Versuche erkennen. Es scheint also das Salipyrin ohne spezielle Wirkung auf den Kochsalzgehalt zu sein. Dafür sprechen auch Versuche von Bogdan, der ebenso wie Schwenkenbecher und Spitta die Natur des schweifstreibenden Mittels ohne wesentlichen Einflufs auf die Konzentration des Schweifses fand. Auch bei reichlich aufgenommener Flüssigkeit fand ich, wie man in Tabelle VI sieht, weiter nichts als eine über den Durchschnitt etwas erhöhte Sekretion, welche in normalem Verhältnis zum Kochsalzgehalt stand. (Nach Latschtschenko beeinflufst das Wassertrinken bei jeder Temperatur die Wasserdampfabgabe durch die Haut nicht.) —

Cramer konnte bei seiner Versuchsperson, als dieselbe zur Sommerszeit im Freien arbeitete, eine Kochsalzausfuhr von 4 g pro Tag nachweisen. Da Schwenkenbecher und Spitta bei im Bette ruhenden Personen selbst bei profusester Sekretion (z. B. bei Morbus Basedowii) nicht mehr als 1 g pro Tag fanden, nimmt Klee einen direkten Einflufs der Muskelarbeit auf den Kochsalzgehalt an. Nach Funkes Angaben und meiner Erfahrung ist aber der Einflufs der Muskelarbeit auf die Sekretion so bedeutend (siehe S. 282), dafs dies vollkommen zur Erklärung ausreichen kann. Zudem bestehen in Absonderung und Kochsalzgehalt des Schweifses grofse individuelle Unterschiede, und Cramers Versuchsperson scheint schon an und für sich einen verhältnismäfsig salzreichen Schweifs abgesondert zu haben, wie aus Cramers Arbeit hervorgeht.

c) Der Kochsalzgehalt der Nahrung.

Bei Untersuchungen über den Kochsalzgehalt des Schweifses ist es von grofser Wichtigkeit, dafs die Einfuhr von Kochsalz in den Körper berücksichtigt wird. Diese Notwendigkeit ist zum erstenmal von Schwenkenbecher und Spitta dargetan worden, welche zeigten, dafs eine kochsalzfreie Kost auch eine verminderte Chlorausscheidung im Schweifs zur Folge hat. Ich führe hier die Versuche dieser Autoren an:

Tabelle VIII.

Versuchsperson	Gewicht	NaCl ausgeschieden im Schweiß pro Tag	Kost
Maria K..	67,5 kg	0,23 g (0,16, 0,24, 0,29)	enthielt nur etwa 3,1 g NaCl pro Tag
Sophie F.	54,1 »	0,20 » (0,21, 0,19, 0,20)	

Während also ein normaler Mensch 15 g NaCl pro Tag in der gewöhnlichen Nahrung aufnimmt und dann nach diesen Autoren im Durchschnitt 0,33 g NaCl durch die Haut ausscheidet, erhielt man im Schweifs dieser beiden Personen nur etwa 0,22 g Kochsalz, wenn eine fast kochsalzfreie Nahrung gereicht wurde.

Der umgekehrte Beweis, dafs bei Zulage von Kochsalz zu gewöhnlicher Nahrung der Schweifs kochsalzreicher wird, gelang Schwenkenbecher und Spitta dagegen nicht.

Auch bei meinen Versuchen mit Salzzulage (siehe S. 290) war nicht die erwartete Wirkung zu sehen.

Eher trat das Umgekehrte ein. Schwenkenbecher und Spitta fanden sogar geringere Kochsalzwerte (0,22 g) im Schweifs bei vermehrter Salzzulage gegen 0,29—0,35 bei gewöhnlicher Kost.

Die Erklärung der genannten Autoren, dies hinge mit der vermehrten Diurose zusammen, stimmt auch mit meinen Erfahrungen über die herabgesetzte Schweifssekretion und gesteigerte Nierentätigkeit unter solchen Verhältnissen überein (s. S. 286).

Da es aber wahrscheinlich war, dafs der Schweifs salzreicher würde, wenn man systematisch längere Zeit eine salzreiche Kost

darbiete, so untersuchte auf Anregung von Schwenkenbecher Ph. Klee diese Verhältnisse noch einmal. Er fand dann tatsächlich bei seinen Versuchen mit Salzzulage eine gesteigerte Chlorausfuhr durch die Haut, während in Versuchsperioden mit gewöhnlicher Kost die Chlorausfuhr geringer war. Klee untersuchte allerdings nicht direkt den prozentualen Kochsalzgehalt im Schweifs, sondern bestimmte nur die in der Wäsche gefundenen Kochsalzmengen. Jedoch hatte er, wie er angibt, gerade an den Tagen mit Salzzulage das Gefühl sehr wenig zu schwitzen, und wie ich selbst zeigen konnte, ist in der Tat unter diesen Umständen die Sekretion herabgesetzt. Es mufs also der Kochsalzgehalt des Schweifses in diesen Tagen zugenommen haben.

Was nun die gewöhnliche Nahrung betrifft, so werden die geringen Schwankungen in ihrem Salzgehalt keinen Einflufs auf die Salzausfuhr durch den Schweifs haben, da sich die Schwankungen aufheben dürften, weil sie zu kurze Zeit andauern.

Ähnlich wie das Kochsalz verhalten sich teils bei einmaliger, teils bei systematischer Zulage eine ganze Anzahl anderer körperfremder Stoffe.

d) Der Kochsalzgehalt des Schweifses verschiedener Hautgebiete.

Bereits im ersten Kapitel habe ich darauf hingewiesen, dafs es bedenklich ist, von Schweifsmengen unter normalen Verhältnissen zu reden. Dasselbe kann man auch, wie ja aus den vorhergehenden Ausführungen hervorgeht, vom Kochsalzgehalt des Schweifses wiederholen.

Ich kann nur sagen, dafs bei 36° C und 60% relativer Feuchtigkeit bei möglichst ruhigem Aufenthalt in der Luft (was ja den normalen Bedingungen am nächsten kommt, S. 288), im Mittel folgende Schweifs- und Kochsalzmengen im Verlauf einer Stunde erhalten wurden.

Tabelle IX.

Gesicht		Arm		Unterschenkel	
Menge	Kochsalz	Menge	Kochsalz	Menge	Kochsalz
3,7 ccm	0.205 %	6 ccm	0,123 %	1,6 ccm	0,052 %

Wir haben also betreffs des Kochsalzgehaltes ganz ähnliche Verhältnisse wie bei der Sekretion (S. 289), Die Haut des Gesichtes, welche relativ am meisten sezerniert, sondert auch den kochsalzreichsten Schweifs ab. Dann folgt der Arm und danach der Unterschenkel.

Diese Tatsachen besagen also, dafs die Schweifsdrüsen verschiedener Körperteile unter denselben Bedingungen verschieden funktionieren.

e) Cramers Theorie des konstanten Kochsalzgehaltes.

Aus allem Gesagten folgt, dafs es unmöglich ist, von einem konstanten Kochsalzgehalt des Schweifses zu reden. Selbst wenn man zugibt, dafs es sich in Cramers Arbeit, wie er selbst sagt, nur um Annäherungswerte handelt, wird man sagen müssen, dafs Zahlen, welche um ein sechsfaches (0,06—0,38) zu grofs oder zu klein sein können, nur geringen Wert haben. Wenn Cramer als durchschnittlichen Kochsalzgehalt 0,38 % angibt, so begeht er damit den Fehler, die Resultate von Vollbadversuchen, welche unnatürlich grofse, ungewöhnlich kochsalzreiche Schweifsmengen liefern, ohne weiteres auf die Verhältnisse in der freien Luft zu übertragen.

Für die praktische Hygiene kommt fast nur der Fall in Betracht, dafs sich der Mensch in freier Luft bewegt. Dabei wird die Schweifssekretion beeinflufst von der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit, der Luftbewegung, der Muskeltätigkeit, von psychischen Momenten usw., lauter Verhältnisse, die mit den Tages- und Jahreszeiten bedeutend wechseln und teilweise fast gar nicht berechnet werden können. Selbst bei den gleichmäfsigsten Bedingungen erhielt ich Schwankungen des Koch-

salzgehaltes um das Doppelte des Betrages; selbst an zwei aufeinander folgenden Tagen konnte ich unter gleichmäſsigen Bedingungen keine ganz gleichen Resultate erhalten. Man wird daher wohl darauf verzichten müssen, aus den auf der Haut gefundenen Kochsalzmengen zugehörige Schweiſsmengen zu berechnen; allein ein Blick auf die Schwankungen von Kurventafel VII und Tabelle VI zeigt, welch falsche Ergebnisse man erhalten hätte, wenn man z. B. bei den Versuchen vom 19. I. und 17. III. nach Cramers Angaben verfahren wäre.

f) Kontrollversuche an anderen Personen.

Selbstverständlich bemühte ich mich, so weit es möglich war, meine Resultate durch Versuche an andern Personen zu stützen. In folgender Tabelle sind die an andern Personen gewonnenen Resultate eingetragen:

Tabelle X.
Versuchsdauer 1 Stunde.

Versuchsperson	Schweiß am Arm		Schweiß vom Gesicht		Temperatur	Feuchtigkeit
	Menge	Kochsalz	Menge	Kochsalz		
D.	1,2 cm³	— %	—	—	40 ° C.	60 %
D.	2,5 »	0,080 »	1,5 cm³		40 »	60 »
Sche. . . .	6,0 »	0,060 »	2,5 »		40 »	80 »
Sche. . . .	8,5 »	0,053 »	5,0 »		40,5 »	80 »
Sche. . . .	5,0 »	0,091 »	2,5 »		40 »	60 »
Schl. . . .	8,0 «	0,108 »	0,8 »		39,5 »	80 »
Schl. . . .	6,0 »	0,058 »	3,3 »		40 »	57 »

Ich unterlasse es, aus den spärlichen Zahlen weitergehende Schlüsse zu ziehen. — Eines aber scheint sicher, daſs bei geringer Schweiſssekretion der Kochsalzgehalt entschieden geringer ist, als man meist annahm.

g) Die Wirkung lokaler Bäder.

Mit der Erfahrung, daſs mit wachsender Absonderungsgeschwindigkeit der Kochsalzgehalt des Schweiſses zunimmt,

scheint die Wirkung lokaler Bäder in gewissem Widerspruch zu stehen. Wenn man nämlich eine Extremität, z. B. den Arm, in ein Glasgefäß einschließt und dieses wesentlich höher erwärmt als die Umgebung des übrigen Körpers, so erhält man von der Extremität geringe Mengen Schweiß, — aber nicht von geringem, sondern von sehr hohem Kochsalzgehalt. Ich lasse hier Versuche von Cramer, aus welchen dies hervorgeht, folgen; die Versuchsperson saß ruhig eine Stunde lang in einem Zimmer, der Arm wurde in ein Wasserbad gebracht.

Tabelle XI.

Schweiß vom Arm		Versuchsbedingungen	
Menge	Kochsalzgehalt	Lufttemperatur	Wassertemperatur
2,1 ccm	0,62 %	24° C	49—45° C
2,7 ccm	0,30 %	30° C	37—40° C
7,1 ccm	0,40 %	30—29,5° C	47—40° C

Ich selbst fand Ähnliches:

Tabelle XII.

Schweiß vom Arm		Versuchsbedingungen	
Menge	Kochsalzgehalt	Lufttemperatur	Wassertemperatur
2,3 ccm	0,389 %	24° C	50° C

Cramer selbst hat diese Versuche mit seinen Vollbadversuchen gleichgestellt. Auch R. Metzner (in Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen) schließt sich dem an und hält offenbar diese Vollbadversuche und die Versuche mit lokalen Bädern für prinzipiell identisch, denn er vergleicht sie miteinander und kommt so zu dem Schluß, daß mit wachsender Sekretion der Kochsalzgehalt abnimmt. (Cramer erhielt natürlich beim Vollbad vom Arm mehr Schweiß als beim Lokalbad,

und dieser Vollbadschweifs war kochsalzärmer als der Lokalbadschweifs.)

Die Richtigkeit von Cramers Ergebnissen zu bezweifeln, liegt kein Grund vor. Auch die von mir auf 21 Versuche begründete Ableitung wird dadurch nicht tangiert. Vorläufig sehe ich in den aufserordentlich interessanten und wichtigen Zahlen der Tabellen XI und XII nur einen Beweis dafür, dafs die Schweifssekretion ein komplizierter Vorgang ist, der anders abläuft, wenn eine Körperprovinz, und anders, wenn der ganze Körper erhitzt wird. — Hervorgehoben soll noch werden, dafs die absoluten Kochsalzwerte im Lokalbadschweifs bei Cramers Versuchen die höchsten sind, die überhaupt gefunden wurden. Auch mein einziger Lokalbadversuch gab den Maximalwert aller meiner Bestimmungen.

Ob die von mir oben bewiesene Gesetzmäfsigkeit, dafs mit der Sekretionsgeschwindigkeit auch der Kochsalzgehalt ansteige, auch für den Lokalbadschweifs gilt, kann erst durch eine gröfsere Anzahl Versuche, deren Ausführung vorbehalten bleibt, festgestellt werden.

V. Die Reaktion des Schweifses gegen Lackmus.

a) Beziehung zwischen Reaktion und Temperatur.

Alle Schweifsmengen, welche ich erhielt, wurden auch auf ihre Reaktion geprüft. Dabei fand ich — nach sorgfältiger Reinigung der Haut — den Schweifs fast immer sauer, in wenigen Fällen neutral, niemals dagegen alkalisch. Je höher die Temperatur war, bei welcher Sekretion hervorgerufen wurde, um so saurer zeigte sich die erhaltene Flüssigkeit, der Unterschied war so deutlich, dafs er mit Lackmuspapier genau festgestellt werden konnte. In zwei Fällen wurde auch die Azidität mit $^1/_{100}$ Normalnatronlauge und Phenolphtalein als Indikator bestimmt. Sie wurde gefunden für 1 ccm Schweifs = 0,425 ccm und 0,725 ccm $^1/_{100}$ Natronlauge. Nähere Angaben folgen in Tabelle XIII.

Tabelle XIII.
Versuchsdauer 1 Stunde.

Schweifs vom Arm		Versuchsbedingungen	
Reaktion	Azidität	Temperatur	Bemerkungen
neutral		29° C	
neutral		26° C	
schwach sauer	1 ccm = 0,425 NaOH	31° C	
» »		31° C	
» »		32° C	
» »		31° C	
deutlich sauer		36° C	
» »		39,5° C	
» »		44° C	
» »	1 ccm = 0,725 NaOH	36,5° C	
» »		40° C	Vollbad
» »		34° C	Muskelarbeit
stark sauer		27° C Wasser 50°	Lokalbad

Zu einer näheren Diskussion genügen diese Zahlen nicht. Interessant erscheint mir aber, dafs ich, so oft ich es versuchte, beim Erhitzen von gesammeltem Schweifs die Reaktion saurer werden sah. Titrimetrisch habe ich diesen Vorgang nicht verfolgt. Derselbe spricht deutlich gegen Angaben der Literatur (Hammarsten), dafs die saure Reaktion von Kohlensäure herrühren könne.

Der Frage, ob der reine Schweifs — wie unter anderen Trümpy und Luchsinger angeben — alkalisch und nur durch Hauttalgbeimischung sauer sei, bin ich nicht nähergetreten.

Ich erhielt nie und an keiner Stelle des Körpers alkalische Reaktion.

Nach meinen Beobachtungen geht die schwachsaure Reaktion, die man in Praxis immer erhält, nur sehr schwer in eine durch Zersetzung verursachte alkalische über. Einige Kubikzentimeter wurden in den Brutschrank (37°) verbracht. Nach 24 Stunden war die Reaktion noch sauer, nach zwei Tagen neutral, und erst nach sechs Tagen alkalisch, wobei der Schweifs einen unangenehmen ammoniakalischen Geruch ausströmte. Der Schweifs war in verschlossenem Gefäfs.

b) Reaktion des Schweifses verschiedener Körperteile.

Bei Untersuchung der Ausscheidung der einzelnen Körperteile fand ich am stärksten sauer den Schweifs des Armes, dann folgte der des Gesichtes und dann fast konstant neutral der des Unterschenkels. Auch dies ist ein Beweis dafür, dafs der Schweifs verschiedener Körperteile verschieden ist. Bei acht andern Personen fand ich (unter normalen Verhältnissen) dreimal den Schweifs neutral und fünfmal sauer (an Arm und Gesicht).

VI. Zusammenfassung.

Fassen wir noch einmal kurz die vorhergehenden Ausführungen zusammen, so kommen wir zu folgenden Resultaten:

1. Die Sekretionsgeschwindigkeit des Schweifses wird nur in grofsen Zügen von der Temperatur bestimmt.

2. Wie namentlich Rubner und seine Schüler gezeigt haben, dient die Schweifssekretion vor allem der Wärmeregulation. Alle Momente, welche eine Wärmestauung im Körper herbeiführen, begünstigen die Schweifssekretion: hohe Aufsentemperatur, Luftfeuchtigkeit, Muskeltätigkeit, heifse Getränke, insbesondere aber über Körpertemperatur erwärmte Bäder.

3. Jede natürliche Schweifssekretion, auch lokale, geht von zentraler Erregung aus.

4. Auch bei den gleichmäfsigsten Bedingungen ist die Sekretion pro eine Stunde für die gleiche Hautregion an zwei verschiedenen Tagen nur ungefähr gleich. — Psychische Momente spielen eine bedeutende Rolle. Harn- und Schweifssekretion stehen in reziprokem Verhältnis.

5. Bei gleichem Reiz nimmt die Sekretionsgeschwindigkeit bei demselben Versuch rasch ab.

6. Unter gleichen Bedingungen sezerniert das Gesicht relativ am meisten, dann folgt der Arm, dann der Unterschenkel. — Verstärkte Sekretion eines Körperteiles ist von annähernd proportionaler Zunahme an den andern Körperstellen gefolgt.

7. Der Kochsalzgehalt des Schweifses ist abhängig von der Sekretionsgeschwindigkeit derart, dafs er mit zunehmender Sekretion zu-, mit abnehmender abnimmt. Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Vollbäder, Muskeltätigkeit und psychische Momente haben also auf den Kochsalzgehalt keinen direkten, sondern nur indirekten Einflufs.

8. Wird die Sekretion sehr profus, so nähert sich der Kochsalzgehalt einer Maximalgrenze.

9. Schweifstreibende Mittel haben nur auf die Sekretionsgeschwindigkeit Einflufs; ebenso die Muskeltätigkeit. Eine direkte Einwirkung auf den Kochsalzgehalt findet nicht statt.

10. Bei systematischer Salzzulage zur Nahrung nimmt der Schweifs an Kochsalz zu und umgekehrt. Die kurz andauernden geringen Schwankungen der Nahrung haben keinen Einflufs.

11. Unter den gleichmäfsigsten Bedingungen ist der Salzgehalt wesentlichen Schwankungen unterworfen. Diese Schwankungen laufen bei den einzelnen Körperteilen parallel.

12. Unter gleichmäfsigen Bedingungen scheidet die Haut des Gesichtes den salzreichsten Schweifs ab, dann folgt der Arm und dann der Unterschenkel. Das ungefähre Verhältnis des Salzgehaltes des betreffenden Schweifses ist bzw. 8 : 4 : 2.

13. Nach 7, 11 und 12 mufs Cramers Theorie eines konstanten Kochsalzgehaltes im Schweifs aufgegeben werden. Die Berechnung der Schweifsmenge aus den absoluten Kochsalzmengen auf der Haut gibt nur sehr ungefähre Anhaltspunkte.

14. Lokale Bäder haben eine prinzipiell andere Wirkung als totale.

15. Unter gewöhnlichen Verhältnissen ist die Reaktion des Schweifses sauer.

16. Die Azidität nimmt beim nachträglichen Erhitzen des Schweifses zu.

17. Der Arm sondert den sauersten Schweifs ab. Dann folgt das Gesicht und dann der Unterschenkel.

18. Muskeltätigkeit, Vollbäder, schweifstreibende Mittel haben keinen direkten Einflufs auf die Azidität.

Zum Schlufs erlaube ich mir noch, Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann für die gütige Zuwendung des Themas und seine wohlwollende Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Ich hoffe bald über weitere Resultate berichten zu können.

Benutzte Literatur.

1. Argutinsky, Pflügers Archiv Bd. 46.
2. Ardin-Delteil, Malys Jahresberichte Bd. 30.
3. Bogdan, zitiert aus Nagel Bd. 2 S. 401.
4. Brieger u. Distelhorst, Deutsche med. Wochenschrift Bd. 29 (zwei Arbeiten).
5. Camerer jun., Zeitschr. f. Biologie Bd. 41.
6. Cramer, Arch. f. Hygiene Bd. 10.
7. Erismann, Zeitschr. f. Biologie Bd. 11.
8. Funke, Untersuchungen z. Naturlehre Bd. 9.
9. Hammarsten, Lehrb. d. physiolog. Chemie, Wiesbaden 1904.
10. Harnack, zitiert aus Nagel Bd. 2 S. 401.
11. Hermann, Lehrbuch d. Physiologie, Berlin 1882
12. Kendall u. Lachsinger, Pflügers Archiv Bd. 18.
13. Klee, Inauguraldissertation, Marburg 1909.
14. Latschtschenko, Arch. f. Hygiene Bd. 33.
15. Luchsinger, Pflügers Archiv Bd. 18.
16. Nagel, Handbuch d. Physiologie d. Menschen, Braunschweig 1906.
17. Pettenkofer u. Voit, Zeitschr. f. Biologie Bd. 2.
18. Reinhard, Zeitschr. f. Biologie Bd. 5.
19. Rubner, Arch. f. Hygiene Bd. 11.
20. Rubner u. Cramer, Arch f. Hygiene Bd. 10.
21. Dieselben, Arch. f. Hygiene Bd. 20.
22. Rubner u. Lewaschew, Arch. f. Hygiene Bd. 29.
23. Schierbeck, Arch. f. Hygiene Bd. 16.
24. Schottin, Arch. f. physiolog. Heilkunde Bd. 11.
25. Schwenkenbecher u. Spitta, Archiv für experimentelle Pharmakologie Bd. 56.
26. Spitta, Arch. f. Hygiene Bd. 36.
27. Straufs, Deutsche med. Wochenschrift Bd. 30.
28. Tarchanoff, Arch. f. d. ges. Physiologie Bd. 46.
29. Trümpy u. Luchsinger, Pflügers Archiv Bd. 18.
30. Weyrich, Leipzig 1862.
31. Wolpert, Arch. f. Hygiene Bd. 41.

Experimentelle Studien über den Einflufs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus.

Teil XVI, XVII, XVIII: Über einige praktisch wichtige Aldehyde (Formaldehyd, Acetaldehyd, Akrolein).

Von

Dr. N. Iwanoff.

Assistent der K. militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg.

(Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

Über die Wirkung der technisch wichtigen Aldehyde bei ihrer Aufnahme in Gasform liegen in der Literatur kaum quantitative Angaben vor. Auch die qualitativen sind bei den meisten der Körper kurz. Ich folgte daher gerne dem Vorschlag des Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann, nach den im hygienischen Institut Würzburg üblichen Methoden, unter Benutzung des Respirationsapparates, einige Zahlen über deren Giftigkeit festzustellen, nach denen sich eine strengere fabrikhygienische Beurteilung dieser Körper ermöglichen läfst, als das bisher der Fall war. Ich habe für jeden Körper zunächst mit besonderer Sorgfalt Methoden ausgearbeitet, die eine bequeme Bestimmung selbst kleiner Dosen in der Luft gestatten. Dann habe ich die drei Körper in der Weise verarbeitet, wie dies Herr Professor Lehmann und seine Schüler mit einer grofsen Reihe von Körpern getan haben, so dafs ich von der Methodik nur folgendes zu sagen brauche.

Durch einen Glaskasten, in dem sich das Tier befand, wurde mittels einer bewegten Gasuhr ein kräftiger Frischluftstrom durchgesaugt, demselben mischte sich ein kleiner Prefsluftstrom zu,

der das giftige Gas zuführte. Der Prefsluftstrom strich entweder einfach durch einen Kolben, in dem der zu prüfende Körper verdampfte, oder (Formaldehyd) durch einen Kolben, in dem ein kleiner Sprayapparat die zu untersuchende Flüssigkeit vernebelte. Diese Methodik schlofs sich eng an die von Buchner für Inhalation von Bakterienaufschwemmungen gewählte an. Sie wurde bereits im Würzburger Institut bei verschiedenen anderen Substanzen, über die noch keine Publikationen vorliegen, ausprobiert. Sie hat auch mir sehr gute Dienste geleistet. Das Wesentliche ist, dafs der Spray sehr fein ist, und dafs der Prefsluftstrom den Nebel zunächst durch eine hohe senkrechte Röhre führt, in der sich alle gröfseren Tröpfchen niederschlagen, so dafs in dem gut ventilierten Tierkasten keine sichtbaren Tröpfchen auftreten. (Buchner, Zentralbl. für Bakteriologie VI.)

In jedem Versuch war ein Elektroventilator in Tätigkeit zu gründlicher Mischung der Luft. Alle Versuche sind an Katzen angestellt und tabellarisch mitgeteilt.

Zur Ermittlung des Giftgehaltes im Raume mufste jedes Mal die direkte Bestimmung in einem abgemessenen Luftstrom gemacht werden. Ich habe darüber bei jedem einzelnen Körper berichtet.

I. Formaldehyd.

1. Einleitung.

Das Einatmen von Formaldehyd findet beim Desinfizieren, beim Aufenthalt in frisch desinfizierten Räumen und bei der Fabrikation des Formalins statt. Wie die Literaturangaben aussagen, empfinden die Arbeiter, die längere Zeit in der Formaldehyd enthaltenden Atmosphäre arbeiten müssen, angeblich schliefslich den Geruch des Formaldehyds weder scharf noch unangenehm. Sie konnten auch keine lästigen Wirkungen beim Einatmen konstatieren[1]).

Nach Kobert »ist Formalindampf zwar sehr reizend für die Schleimhäute, doch aber nicht sehr giftig, da Tiere denselben stundenlang ertragen. Das Blut schädigt Formalin in seiner Zu-

1) Kunkel, Handbuch d. Toxykologie 1901.

sammensetzung und Funktionsfähigkeit, selbst wenn es sehr verdünnt ist. Bei Einspritzungen sehr verdünnter Lösungen ins Blut erfolgt bei Tieren der Tod unter Dyspnoe, Krämpfen, Opisthotonus. Ob an der giftigen Wirkung gröfserer Dosen auf das Zentralnervensystem seine reduzierenden Eigenschaften mitbeteiligt sind, ist schwer festzustellen. Gianelli fand, »dafs Einatmung konzentrierter Formalindämpfe auf die betroffenen Schleimhäute nekrotisierend wirkt«[1]). Die Wirkung genau dosierter Luft-Formaldehydmischungen auf den Tierorganismus scheint in der Literatur fast gar nicht behandelt; ich habe wenigstens keine Angaben gefunden.

2. Analytische Bestimmung.

Die Nachprüfungen der verschiedenen Verfahren zur Formaldehydbestimmung durch viele von einander unabhängige Autoren in reinen wässerigen Lösungen haben gezeigt, dafs das Romjin'sche Verfahren[2]) das genaueste ist[3]). Dieses Verfahren beruht auf der Eigenschaft des Formaldehyds, sich mit Jod in Gegenwart von Natronlauge zu Ameisensäure zu oxydieren nach der Formel:
$HCHO + 2J + NaOH = HCO_2Na + 2JNa + H_2O$.

Ausgeführt wird das Verfahren folgendermafsen: Zu der zu untersuchenden Formalinlösung (ca. 1%) wird titrierte Jodlösung im Überschufs hinzugefügt und darauf NaOH; dann bildet sich stark oxydierend wirkendes NaJO. Nach halbstündigem Stehen gibt man verdünnte HCl-Säure hinzu, bis zum völligen Ausscheiden des Jods aus dem NaJO, das bei der Oxydation des Formaldehyds nicht verbraucht war. Das freigemachte Jod wird mit $Na_2S_2O_3$ zurücktitriert (Indikator-Stärkekleister). Nach der verbrauchten Jodmenge berechnet man die Formaldehydmenge:

$2 \times 126,85$ g J entspr. 30 g HCHO
oder 1 ccm $^1/_{10}$ N-Jodlösung enthaltend 12,685 mg J
$= 1,5$ mg HCHO.

1) R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, 2. Aufl., Bd. III, Abs. I, 89.

2) Zeitschr. f. anal. Chem. 1897.

3) Siehe z. B. Blank & Finkenbeiner, B. 1898, Schiff, Hyg. Rundschau 1894; K. Wällnitz, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genufsmittel 1904, 8.

Seiner Genauigkeit und Bequemlichkeit wegen ist das Romjin'sche Verfahren auch für Formaldehydbestimmungen in den zu desinfizierenden Räumen am meisten benutzt[1]). Dabei wird das Verfahren in folgender Weise ausgeführt: Die zu untersuchende Luft saugt man durch die Absorptionsgefäfse (Pettenkofer'sche Röhren oder Drechsel'sche Gaswaschflasche), die Romjin'sche Jodlösung enthalten; später fügt man Natronlauge hinzu und verfährt wie oben nach der von Romjin angegebenen Vorschrift.

Im vorigen Winter habe ich in Petersburg einige Kontrollversuche über Formaldehydbestimmung in der Luft in oben beschriebener Weise angestellt[2]). Es hat sich dabei gezeigt, dafs durch Leiten von Luft aus unreinlichen Räumen oder Kammern mit unreinen Kleidungsstücken durch Jodlösung, Veränderungen in der titrierten Jodlösung eintreten, indem die Konzentration der Jodlösung an Stärke etwas abnimmt. Die Veränderung ist nicht grofs, sobald es sich um einige Liter Luft handelt, wird aber beträchtlicher, wenn man die Rechnung auf 1 ccm bezieht.

Deshalb habe ich damals, um eine Jodverbindung durch andere Luftbestandteile als Formaldehyd zu vermeiden, ein Verfahren ähnlich dem Pettenkofer'schen zur Kohlensäurebestimmung vorgeschlagen. Man nimmt eine trockene kalibrierte (ca. 5 Liter) mit einem Gummistopfen, der durch einen Scheidetrichter mit Hahn und einer Röhre, die bis zum Boden des Gefäfses reicht, durchbohrt ist, versehene Flasche und füllt sie durch Ansaugen an der Röhre durch den Trichter mit der zu untersuchenden Luft; dann schliefst man den Hahn des Scheidetrichters und die Röhre hermetisch zu. Nachdem dies geschehen, giefst man in den Scheidetrichter eine bestimmte Menge der Jodlösung und etwas Natronlauge, spült mit Wasser nach, macht den Hahn zu und läfst 1 Stunde bei wiederholtem Schütteln

1) M. Wintgen, Die Bestimmung des Formaldehydgehalt, Hygien. Rundschau 1899; Peerenbom, Bestimmung des Formaldehyds in der Luft ebenda.

2) Mitteilungen der kaiserl. Milit.-Akademie 1909. Zur Frage der Formaldehydbestimmung (russisch).

stehen. Dann wird Salzsäure, die kein freies Chlor enthält, hinzugefügt und weiter nach Romjin titriert. Diese Modifikation gibt besser übereinstimmende Resultate als das unmittelbare Durchsaugen durch eine titrierte Jodlösung.

Da ich in der vorliegenden Arbeit einerseits vorwiegend mit kleinen Mengen von Formaldehyd in der Luft zu tun hatte und anderseits diese Arbeit die gröfste Genauigkeit verlangte, war ich gezwungen, noch einmal die beiden angegebenen Methoden auf ihre Genauigkeit zu prüfen. Die in diesem Sinne angestellten Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: Ich brachte in einen Mefskolben von 100 ccm Inhalt 1 ccm Formalin und füllte mit destilliertem Wasser bis zur Marke; von dieser Formaldehydlösung nahm ich 20 ccm zur Bestimmung nach Romjin. Dann beschickte ich ein 30—35 ccm langes und 2,3 cm weites am offenen Ende noch etwas erweitertes Reagenzglas mit 1 ccm des früher angewandten Formalins und verschlofs es mit einem paraffinierten Gummistopfen. Der letztere trug zwei Bohrungen für eine lange und eine kurze Röhre. Das soeben beschriebene grofse Reagenzglas wurde jetzt mit 4—6 ähnlichen Absorptionsgläsern verbunden, von denen die ersten 2—3 mit je 5 cm titrierter Jodlösung, die folgenden zwei mit je 5 cm titrierter Natriumthiosulfatlösung, das letzte Glas stets mit destilliertem Wasser gefüllt waren. Der Inhalt sämtlicher Gläser, mit Ausnahme des Formalinglases, wurde in einer Flasche von 500 ccm zusammengegossen. Die absorbierte Formaldehydmenge bestimmte ich nach Romjin. Hierauf bestimmte ich den Verlust an Formaldehyd in der Formalinröhre dadurch, dafs ich die Formalinreste in der Röhre in einen 100 ccm Kolben mit destilliertem Wasser sorgfältig ausspülte und von dieser Lösung 20 ccm zur Bestimmung nach Romjin nahm. Der Verlust an Formaldehyd in der Formalinröhre mufs der absorbierten Menge in den Absorptionsgefäfsen gleich sein. Unter Berücksichtigung der Menge der durchsogenen Luft finden wir Angaben pro 1 l. Die erhaltenen Resultate haben gezeigt, dass diese Methode in dieser Form für meine Zwecke nicht vollständig genügt, indem einzelne unbefriedigende Resultate erhalten wurden.

Tabelle I.

Nummer des Versuchs	Nach dem HCHO-Verlust des Formalins müßte in 1 l Luft HCHO sein.	Es ist in den Absorptionsgläsern pro 1 l durchgesaugte Luft gefunden.	+ −	+ − in %
I	14,7 mg	14,8 mg	+ 0,01	+ 0,06
II	6,2 »	7,45 »	+ 1,25	+ 20,1
III	1,2 »	1,6 »	+ 0,4	+ 3,3
IV	3,7 »	3,73 »	+ 0,03	+ 0,8
V	4,8 »	4,6 »	− 0,02	− 4,0
VI	4,21 »	4,26 »	+ 0,05	+ 0,1

Diese erste Versuchsreihe zeigt, dafs man fast immer etwas mehr Formaldehyd in den absorbierenden Flüssigkeiten fand, als aus der Menge des aus dem Formalinglas verschwundenen Formaldehyds zu erwarten wäre. Es scheint nach diesen Resultaten nicht unmöglich, dafs beim Einwirken von Jod auf Formaldehyddämpfe bei Abwesenheit von Natronlauge teilweise ein jodreicheres Reaktionsprodukt entsteht, welches bei späterer Einwirkung von Natronlauge nicht zu Ameisensäure oxydiert wird.

Eine zweite Serie von Kontrollversuchen bestand darin, dafs man ein grofses abgemessenes Luftquantum durch 1 ccm Formalin und eine ca. 5 l fassende leere kalibrierte Flasche durchsog. In diesem Falle mufste der Verlust an Formaldehyd in der Formalinröhre gleich sein dem Gehalt an Formaldehyd in 1 l Flaschenluft multipliziert mit dem durchgezogenen Luftquantum sein.

Bei der Flaschenmethode bekam ich manchmal sehr gute Erfolge, aber manchmal erhielt ich auch wieder zu grofse Werte. Dieselben sind nur erklärlich 1. durch nicht absolute Trockenheit der Flaschenwände (durch Sinken der Zimmertemperatur während des Versuches) und 2. durch Einwirkung des Lichtes besonders des direkten Sonnenlichtes. Die enorme Löslichkeit (vielleicht auch Affinität) des Formaldehyds im Wasser hat zur Folge, dafs bei minimalem Feuchtigkeitsniederschlag sofort Formaldehyd an den Glaswänden zurückgehalten wird. Die Lichteinwirkung kann Veranlassung zur Polymerisierung des Form-

aldehyds und zu pulvrigen Niederschlägen an den Flaschenwänden geben. Paraform tritt aber in Reaktion mit alkalischer Jodlösung, gerade wie Formalin selbst. Die folgende Tabelle zeigt die verblüffende Ungenauigkeit der Resultate, die auf obige Fehlerquellen zurückgeführt werden müssen.

Tabelle II.

Nummer des Versuchs	Nach dem HCHO-Verlust der Vorlage müßte in 1 l Luft HCHO sein	Es ist in 1 l Flaschenluft gefunden	+ –	+ – in %
I	3,7 mg	3,06 mg	— 0,64 mg	— 1,8
II	1,95 »	4,9 »	+ 2,95 »	+ 151,0
III	2,03 »	2,2 »	+ 0,17 »	+ 8,0
IV	0,5 »	0,65 »	+ 0,15 »	+ 30,0
V	1,9 »	2,2 »	+ 0,3 »	+ 15,0
VI	1,0 »	1,01 »	+ 0,01 »	+ 1,0
VII	1,0 »	1,29 »	+ 0,29 »	+ 29,0

Infolgedessen habe ich die Flaschenmethode wieder verlassen, bin zur Absorptionsmethode mit 6 hintereinander geschalteten Gläsern zurückgekehrt, habe aber statt Jod nur Wasser zur Füllung der Gläser verwendet, und zwar je 20 ccm. Nach dem Schlusse jedes Durchsaugens sog man mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe in die 5 ersteren Röhren weiteres Wasser bis zur Füllung ein; auf diese Weise wurden die geringen Formaldehydmengen, die an den Glaswänden und in den Röhren vorhanden sein konnten, ausgewaschen. Danach wurde der Inhalt dieser Röhren in eine Flasche mit Glasstopfen von 500 ccm gegossen. Zu dieser Lösung gab man überschüssige titrierte Jodlösung, (etwa $^1/_4$ der zur Oxydation nötigen Menge) und dann tropfenweise Natronlauge, bis eine bräunlichgelbe Färbung eintrat (nicht aber bis zur völligen Entfärbung). Anfangs verschwindet diese Farbe bald, weshalb ich empfehle, von Zeit zu Zeit, Schwefelsäure tropfenweise zuzugeben, um eine deutliche Gelbfärbung für 1 Stunde zu unterhalten. Nach dieser Zeit fügt man Schwefelsäure[1]) hinzu, bis zur völligen Zersetzung des

[1]) Nach Wittgen (s. oben) verwendet man bei der ganzen Arbeit besser Schwefelsäure als Salzsäure, die Romjin vorgeschlagen hatte.

NaJO, vermeidet aber einen grofsen Überschufs, weil sich sonst das Tihiosulfat bei der Titrierung zersetzt. Nach 1/4 Stunde langem Stehenlassen bei saurer Reaktion wird mit Natriumhyposulfit titriert. Die Konzentration des Jodes und der Natriumhyposulfitlösung, die zur Anwendung kamen, war so beschaffen, dafs 1 ccm derselben 1—5 mg des Formaldehyds entsprachen. Der J-Titer wurde auf Kaliumbichromat eingestellt und kontrolliert. Die Resultate zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Nummer des Versuchs	Es ist von HCHO für den Versuch vorgelegt I	Es ist von HCHO nach dem Versuche übrig geblieben II	Es ist von HCHO in den Absorptionsröhren gefunden III	Summa II u. III	Also zuviel oder zu wenig gefunden	− + in %
1	401,0 mg	394,5 mg	4,5 mg	399,00 mg	— 2,0 mg	— 0,5
2	409,0 »	224,0 »	184,12 »	408,12 »	— 0,88 »	— 0,22
3	419,0 »	413,0 »	6,75 »	419,15 »	+ 0,75 »	+ 0,19
4	419,0 »	417,5 »	2,5 »	420,0 »	+ 1,0 »	+ 0,25
5	481,0 »	356,4 »	124,3 »	480,7 »	— 0,3 »	— 0,06

Diese Resultate befriedigten mich so, dafs ich diese einfache Modifikation der Romjin'schen Methode als eine wirkliche Verbesserung glaube bezeichnen zu dürfen. Ich habe bei meinen Tierversuchen stets nach derselben gearbeitet.

Tierversuche mit Formaldehyd.

Während des ganzen Versuches sog man aus dem Tierkasten eine bestimmte Luftmenge mittels einer Aspiratorflasche durch 6 je mit 20 ccm Wasser gefüllte Röhren. Da aber das Wasser in den Gläsern der durchströmenden Luft einen grofsen Widerstand bot, so entstand im Aspirator eine Luftverdünnung, und infolgedessen strömte weniger Luft ein, als Wasser ausflofs. Diese Luftmenge liefs ich am Versuchsschlufs durch eine (während des Versuchs seitlich eingeschaltete aber durch 2 Quetschhähne abgeschlossene) Gasuhr in die Aspiratorflasche einströmen und brachte ihr Volum von dem des ausgeflossenen Wassers in Abzug.

Diese Korrektur betrug ca. 6—7 %, wie sich auch aus der Tatsache ergibt, dafs die Summe der Wasserwiderstände etwa 60 ccm betrug. Gewöhnlich machte ich während des Versuches (je nach Dauer desselben) mindestens 2 Luftanalysen, die nahe übereinstimmende Werte ergaben.

(Tabelle IV S. 316—319.)

II. Acetaldehyd.

Analytische Bestimmung.

Zur Bestimmung des Acetaldehyds sind einige Methoden vorgeschlagen worden. A. Reitzenstein prüfte für seine Arbeit[1]) die Brauchbarkeit der von Windisch[2]) empfohlenen Farbenreaktion zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung des Acetaldehyds und auch das Tollens'sche Verfahren[3]). Dabei hat er gefunden, dafs die Windisch'sche Reaktion für eine quantitative Bestimmung ganz unbrauchbar ist, während die Tollens'sche Methode mittels Reduktion von alkalischer Silberlösung schwankende und immer zu niedrigere Werte gibt. Für seine Zwecke hat Reitzenstein die letzte Methode etwas modifiziert. Dabei war es ihm gelungen etwas gröfsere Proportionalität in der Ausscheidung von metallischem Silber aus seiner alkalischen Lösung durch Acetaldehyd zu bekommen. Doch blieb das Resultat durchschnittlich bis um 30 % hinter der Wahrheit zurück. Maximilian Ripper[4]) schlug eine neue Methode zur Bestimmung des Acetaldehyds vor. Diese Methode beruht auf der Eigenschaft der Acetaldehyde mit Alkalibisulfiten Verbindungen zu geben.

---

1) Albert Reitzenstein, Untersuchungen über die Ausscheidung des Aldehyds im Organismus. Inaugural-Dissertation, Würzburg 1897.

2) Windisch, Über den Nachweis sehr geringer Mengen Aldehyds im Spiritus. Vierteljahrsschrift über die Fortschritte auf dem Gebiete der Chemie der Nahrungs- und Genufsmittel, 1. Jahrgang 1886,

3) B. Tollens, Über ammoniakalische Silberlösung als Reagens auf Aldehyd. Berliner Ber. XV. I. 1892.

4) Sitzungsberichte der Mathemat. Naturwissenschaftlichen Klasse der Kgl. Akademie der Wissenschaft in Wien 1899.

(Fortsetzung des Textes S. 320.)

Tabelle IV. **Versuche mit Formaldehyd.**

Nr. des Versuches	Tiergewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Formaldehyd pro 1 l in Milligramm	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
VII	3000	3 1/2	0,26 erste 1 1/4 Std. 0,2 letzte 2 Std. 0,32	Sofort nach dem Hineinsetzen Niesen, Husten, Speichelsekretion, Respiration verlangsamt 10—12. Nach 60 Min. Eintreten vermehrter Tränensekretion. Nach 120 Min. leichte Dyspnoe. Augen fast ganze Zeit geschlossen. Bis zum Schlufs des Versuches status idem.	Am Ende des Versuches scheint sich das Tier nicht besonders schlecht zu fühlen. Am folgenden Tage etwas Appetitlosigkeit, erholt sich aber bald.	
V.	1830 Das Tier war mit N VI zusammen	4	0,82 erste 2 1/2 Std. 0,83 letzte 1 1/2 Std. 0,81	Sofort dünnflüssige Speichelsekretion. Nach 15 Min. Respiration 16. Augen halb geschlossen, Ruhe. Weiter keine nennenswerten Änderungen zu konstatieren. Erst am Ende des Versuches hat sich der Zustand des Tieres verschlechtert: reichlichere Speichelsekretion, Husten.	Die ersten zwei Tage nach dem Versuche Appetitlosigkeit, leichtes Husten. Hat sich aber vollständig erholt.	
VI.	2700	8 2/3	0,82 erste 4 Std. 0,82 folgende 1 Std. 0,62, nachdem 1,0	Sofort enorme Speichelsekretion, Niesen. Nach 15 Min. Respiration 20—24. Unruhe. Nach 35 Min. Respiration ca. 40, stofsweise. Mund halb aufgesperrt, Zunge ausgestreckt, Husten. Am Ende dieser Zeit vorübergehende aber lebhafte Unruhe. Nach 75 Min. Speichelsekretion spärlicher, Respiration 27, unregelmäfsig, durch Husten unterbrochen. Nach 100 Min. Respiration 34. Maulaufsperren. Augen meistens geschlossen. Nach 140 Min. Respiration 22 unregelmäfsig. Nach 180 Min. sitzt ganz ruhig. Nach 420 Min. geringes Tränen. Respiration 16, stofsweise. Maulaufsperren. Speichelsekretion spärlich. Nach 465 Min. Nasensekretion. Re-	Die ersten zwei Tage nach dem Versuche scheint das Befinden des Tieres nicht besonders schlecht. Dann trat Verschlechterung ein, am 6. Tag der Tod.	Merkwürdigerweise scheint das Tier (der Mund war voll Kot) etwas Kot gefressen zu haben. Die Nasengänge eiterfrei. Etwas hyperämisch. Auf dem Gaumen etwas Eiter, Lungen stark hyperämisch, ödematös. Beim Schneiden tritt blutige und zum Teil eiterige Flüssigkeit hervor. Der Eiter stammt aus den kleinen Bronchen. Trachea enthält viel Eiter. Larynx mit eiterigen Massen verstopft. Schleimhaut von Larynx und Tra-

				spiration 16. Deutliche Dyspnoe. Nach 480 Min. oftes Schlucken.		chea stark hyperämisch, läfst sich aber nicht abheben. Die Ventrikel mit etwas dunkelrotem Blut gefüllt. Nieren hyperämisch.
IV	2620	8	0,825 erste 3 Std. 0,85 folgende 2 Std. 0,80, nachdem 0,83.	Sofort Tränen, dünnflüssige Speichelsekretion, Augenschliefsen. Erste 110 Min. Speichelsekretion. Respiration 14—15 unregelmäfsig, durch Husten unterbrochen. Maulaufsperren. Augen meist geschlossen. Ruhe. Leichtes Zittern des ganzen Körpers. Nach 375 Min. Respiration 16, Dyspnoezeichen. Mund und Nase leicht gerötet. Nasensekretion. Brechbewegungen. Nach 465 Min. Respiration 18—20. Dyspnoe. Starkes Maulaufsperren. Zähe Speichelsekretion. Leidet sehr. Nach 480 Min. Erbrechen, Schreien. Beim Atmen zieht das Tier den Kopf nach hinten.	Nach Herausnahme Brechbewegungen. Atmet mit Geräusch. Nach 2 Tagen eiterige Flüssigkeit aus dem Munde. Dyspnoe. Am 3. Tage das Befinden sehr schlecht. 4 Tage nach dem Versuch Tod.	In der Trachea reichliche Menge ödematöser Flüssigkeit. Ausgebreitetes Lungenödem. Randemphysem (vikariierendes Emphysem). Überall Blutungen, die nicht nur oberflächlich sind, sondern auch in die Tiefe gehen. $^2/_3$ der Lungen sind infolge von Ödem und Blutungen (und pneumonischer Infiltration?) von der Atmung ausgeschaltet. Tod ist infolge ungenügender Arbeit der Lungen eingetreten.
I	2000	4 $^2/_3$	2,01 erste 2 Std. 1,48, weiter 2,54	Sofort deutliche Wirkung: Tränen, dünnflüssige Speichelsekretion, Respiration verlangsamt, unregelmäfsig durch Husten und Niesen unterbrochen. Mund offen. Augen geschlossen. Nach 5 Min. wird der Speichel dickflüssig. Beim Atmen Kopf nach hinten gezogen. Nach 18 Min. zähe Speichelsekretion. Dyspnoe. Starkes Niesen. Nach 25 Min. Respiration 19, schlaffe Bewegungen. Nach 45 Min. Respiration 16, von Schlucken begleitet. Starkes dauerndes Niesen, Singultus. Nach 60 Min. Respiration 11—12. Fortdauernde Mundatmung. Husten. Nach 90 Min. Respiration ca. 10. Stets liegende Stellung. Zunge deutlich rot. Nach 160 Min. Brechbewegungen. Nach 235	Am folgenden Tage Appetitlosigkeit, keine Lust zur Bewegung, schwere, unregelmäfsige Atmung mit Geräusch. Stirbt am 4. Tage nach dem Versuch.	Mund und Nase mit Eiter gefüllt. Cornea normal. Trachea mit Membran ausgekleidet (geronnenes Eiweifs und Bakterien). Eiterige Pneumonie in allen Lungenlappen. Hämorrhagisches Exsudat in der Pleurahöhle. Auf dem Herzbeutel etwas fibrinöse Auflagerung. Die Herzkammern und Vorkammern sind mit einem speckigen blutigen Gerinnsel prall ausgefüllt. Starke Verfettung der Nieren, gelblich gekörnt. Die mikroskopische Untersuchung

Tabelle IV (Fortsetzung.)

Nr. des Versuches	Tiergewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Formaldehyd pro 1 l in Milligramm	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
				Min. starkes Erbrechen von weifser, schaumiger Flüssigkeit. Am Schlufse des Versuches starke Dyspnoe.		zeigt im Eiter der Lungen u. Bronchien massenhafte Streptococcus lanceolatus.
VIII	2000	3	6,33 (Formalin war erwärmt) erste 1 $^1/_2$ Std. 6,56, weiter 6,10	Sofort Unruhe, Speichelsekretion. Die Katze leckt sich ab. Respiration ca. 28, von Schlucken begleitet. Augen geschlossen. Nach 15 Min.: Die Kastenwände mit kondensiertem Wasser bedeckt. Speichel wird reichlicher. Resp. 22. Bald darauf Maulaufsperren und sonstige Dyspnoezeichen. Der Kopf bewegt sich beim Atmen. Nach 125 Min. Resp. 18—20. Fortdauernde Nasensekretion. Nach 140 Min. Erbrechen von weifser schaumiger Flüssigkeit. 5 Min. später scheint sie zu schlummern. Respiration am Ende des Versuches 18.	Tod 20 Min. nach dem Versuche.	An den Augen, Mund und Nase nichts Auffallendes. In der Trachea geronnene fibrinöse Flüssigkeit. $^1/_3$ der Lunge von der Atmung ausgeschaltet, hyperämisch, ödematös und mit kleinen Blutungen durchsetzt. Herz normal, Nieren auch. Im Gehirn nur leichte Hyperämie.
II.	3200	3 $^1/_2$	9,63 (Formalin war erwärmt) erste 2 Std. 9,80, dann 9,49	Sofort Niesen, erst dünnflüssige, dann bald dickflüssige Speichelsekretion. Tränen. Maulaufsperren. 40 Min. lange unaufhörliche Speichelsekretion. Niesen, Maulaufsperren und sonstige Dyspnoezeichen. Am Ende dieser Zeit starke Brechbewegungen. Respiration 18, stofsweise. Nach 45 Min. starke anhaltende Brechbewegungen. Nach 60 Min. Respiration ca. 27 unregelmäfsig durch Niesen unterbrochen, unter stetem Maulaufsperren. Speichelsekretion, die vor einigen Minuten abgenommen hatte, wird wieder reichlicher, Brechbewegungen. 68—85. Min.: Liegende Stellung, die		Die Zunge zerbissen, die Nase enthält blutige Flüssigkeiten. Septum blutrot. Brustkasten und Magen kolossal aufgebläht. Larynx sehr stark injiziert. Trachealschleimhaut läfst sich leicht schichtweise abheben; wo die Ringknorpel zusammenstofsen scheint die Schleimhaut völlig abgelöst zu sein. Die Gefäfse der Lungenwurzel sind von sehr stark ödematösem Bindegewebe umgeben, Lungen stark hy-

			oft verlassen wird wegen starken krampfhaften Brechbewegungen. Nach 86 Min. krampfhaftes Erbrechen. Respiration 16. Speichel mit Blut gefärbt. 90—115 Min.: Liegende Stellung durch heftige Brechbewegungen gestört. Am Ende dieser Zeit krampfhaftes Erbrechen von einem grofsen Stück Fleisch. Der Speichel mit Blut gemischt. Bald darauf legt sie sich auf die Seite, die Füfse ausgestreckt. Atem schwer, stofsweise. Augen geschlossen. Nach 135 Min. Respiration 20, stofsweise oberflächlich. Einige Male versucht sie aufzustehen, aber sie sinkt kraftlos zusammen und bleibt auf der Seite liegen. Fortdauernde Brechbewegungen. Husten. 140—160 Min.: Respiration 15 spastisch. Liegende Stellung (auf der Seite), Kopf kraftlos auf die Füfse gesunken. Nach 166 Min. heftige Unruhe. Bald steht sie auf, bald sinkt sie wieder zusammen. Respiration beschleunigt ca. 35. Nach 168 Min. starke Erregung, Respiration 42, wird aber bald langsamer. Von der 175. bis 189. Min. heftiges Umherspringen, abwechselnd mit kraftlosem Zusammenbrechen. Am Ende liegt sie ohne Bewegung. Augen trüb, halbgeöffnet. Atmung verlangsamt, unregelmäfsig. Nach 192 Min. heftige Krämpfe des ganzen Körpers, besonders der Hinterbeine. Atmung ist kaum zu merken. Magen scheint aufgebläht zu sein. Zunge ausgestreckt. Augen geöffnet. Nach 200 Min. keine Bewegung. Bisweilen leichte Zuckungen des Bauches. Nach 200 Min. Tod.		perämisch, ödematös. Beide Vorhöfe u. die rechte Herzkammer enthalten wenig teerähnliches Blut. Die mikroskopische Untersuchung zeigt viele Hämoglobinkristalle, Formänderung und Entfärbung der roten Blutkörperchen. In Leber und Nieren keine auffallende Veränderungen. Die Harnblase enthält keinen Harn, dafür aber viel Sperma und der Harnblase entstammende abgestofsene Epithelzellen. Conjunctiva der Augen wenig ergriffen. Die Hornhaut, Glaskörper und Linse völlig durchsichtig. Kammerwasser beider Augen blutig gefärbt! Die Pupille zeigt maximale Erweiterung, schimmert rot. Die gelbe Iris erscheint orange am unverletzten Auge wegen des Blutfarbstoffgehaltes des Kammerwassers.

Das mit Aldehyd in Verbindung eingetretene Alkalibisulfit oxydiert sich mit Jod nicht mehr. Die Bestimmung wird folgendermafsen ausgeführt. Zu 25 ccm ca. $^1/_2$-proz. Acetaldehydlösung gibt man 50 ccm titrierte $KHSO_3$-Lösung (ca. 12 g auf 1 l). Die nach halbstündigem Stehen freigebliebene Menge $KHSO_3$ wird mit titrierter Jodjodkaliumlösung von bekanntem Gehalt zurücktitriert. Da diese Methode für die Bestimmung mehrerer Aldehyde anwendbar ist, gibt Ripper für jeden Aldehyd einen Koeffizient, der die Aldehydmenge nach dem Jodverbrauch zu berechnen ermöglicht.

Vielfache Kontrollversuche gaben mir verhältnismäfsig gute Resultate und zeigten, dafs dieses Verfahren seiner Genauigkeit wegen in Vergleich mit anderen[1]) für meine Arbeit das brauchbarste war.

Es wurden 10 ccm einer Acetaldehydlösung von unbekanntem Gehalt genommen und dazu folgende Menge von Rippers titrierter $KHSO_3$-Lösung gegeben:

	20,	30,	40,	50,	60,	70,	80 ccm
Es wurde Acetaldehyd gefunden:	73,3	73,9	66,9	65,8	83,8	66,2	73,9 mg

d. i. im Durchschnitt 75.

Aber es hat sich mir gezeigt, dafs man Natriumbisulfit bevorzugen mufs[2]), da es mit Azetaldehyd festere, durch Wasser und Jodwasserstoffsäure weniger zersetzbare Verbindung bildet, und darum war es möglich die titrierten Flüssigkeiten in einer gröfseren Verdünnung zu benutzen und bei der Rücktitration genauere Resultate zu erhalten. In einem Beispiel wurden beim Zusatz sehr wechselnder Überschüsse von Natriumbisulfitlösung folgende Werte für den Gehalt an CH_3CHO in 10 ccm wässeriger Azetaldehydlösung gefunden:

74,25; 73,5; 73,98; 74,03; 71,25; 70,50;

im Durchschnitt 72,92. Also sehr gute Übereinstimmung.

1) Z. B. Samuel & Saatler, Ztschr. f. an. Chemie 17. Eine neue Bestimmungsmethode für Aldehyde. — Manget & Marior, Zeitschrift f. Untersuchung v. Nahrungs- u. Genufsmitteln 1904. Reagens auf Aldehyde. — E. Feder, ibid. 1907. Eine neue Quecksilberlösung als Reagens auf Aldehyde insbesondere Formaldehyd.

2) Ich bin hierauf durch meine Studien mit Acrolein gekommen. S. u.

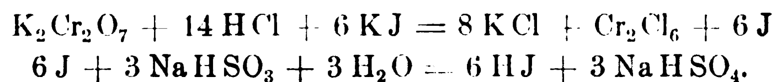
Auch Acetaldehydbestimmung in der Luft, nach den Prinzipien derer ich mich bei der Formaldehydbestimmung bedient hatte (S. 313), gab gute Resultate. Da aber Acetaldehyd sich teilweise durch den Luftstrom oxydieren kann, so war es interessant, einen Teil der Gesamtmenge des Wassers aus den Absorptionsgläsern (mit Spülwasser) mittels $^1/_{100}$ N Natronlauge auf seinen Säuregrad zu untersuchen. 1 cmm $^1/_{100}$ N Natronlauge entspricht 0,6 mg Essigsäure resp. 0,44 mg Azetaldehyd als Muttersubstanz der Essigsäure. Die auf diese Weise berechnete Azetaldehydmenge mufs zu der mit $NaHSO_3$ erhaltenen Menge addiert werden.

Zur Berechnung der notwendigen Konzentration der titrierten Lösung dienen folgende Überlegungen:

44 CH_3CHO entsprechen 104,1 $NaHSO_3$.

1 Mol. $NaHSO_3$ braucht 2 Mol. Jod zur Oxydation, also 104,1 $NaHSO_3$ = 2 · 126,85 Jod.

Der Titer des Natriumbisulfit war mit Kaliumbichromat eingestellt:



$$K_2Cr_2O_7 + 14\,HCl + 6\,KJ = 8\,KCl + Cr_2Cl_6 + 6\,J$$
$$6\,J + 3\,NaHSO_3 + 3\,H_2O = 6\,HJ + 3\,NaHSO_4.$$

Es entsprechen also 295 $K_2Cr_2O_7$ = 6 · 126,85 Jod = 3 · 44 Acetaldehyd.

$$\text{Oder: 1 Azetaldehyd } \frac{295}{3 \cdot 44} = 2{,}2348\; K_2Cr_2O_7;$$

$$\frac{104{,}1}{44} = 2{,}3659\; NaHSO_3.$$

Wenn man eine Lösung von 2,2348 g $K_2Cr_2O_7$ in 1 l Wasser benutzt, so wird 1 ccm dieser Lösung solche Menge Jod aus sauerer Jodkaliumlösung frei machen, dafs zu seiner Bindung so viel $NaHSO_3$ notwendig ist, als man zur Bindung von 1 mg Acetaldehyd braucht. 1 ccm der Bisulfitlösung mit 2,3659 mg im Liter bindet 1 mg Acetaldehyd und entspricht 0,46 ccm $^1/_{10}$ Normaljodlösung. Beim sorgfältigen Titrieren darf der Unterschied nicht gröfser als 1 % sein.

Die Resultate der vorgenommenen Versuche (nach Anordnung von S. 314) sind folgende:

Tabelle V.

Nr. des Versuches	Menge des vorgelegten CH_3CHO	Menge des zurückgebliebenen CH_3CHO	Menge des in den Absorptionsgläsern gefundenen CH_3CHO	II + III	mg zuviel oder zu wenig	Fehler in %
	I	II	III			
1	678,19	63,9	610	675,9	— 2,29	— 0,3
2	419,0	2,5	417,5	420,0	+ 1	+ 0,2
3	721,49	32,4	684,8	717,2	— 4,29	— 0,6
4	717,0	26,4	674,85	701,25	— 15,75	— 2,0

Diese Resultate befriedigten vollständig.

Auf diese Ergebnisse baute ich folgende Methode zur Bestimmung des Acetaldehyds in der Luft in der Versuchskammer. Die Luft aus der Versuchskammer wurde durch die sechs bei Formaldehyd beschriebenen, auch diesmal mit Wasser gefüllten, Röhren gesogen. Nachdem ein gewisses Luftquantum hindurchgesogen war, sog man mittels einer Wasserstrahlpumpe in das erste Reagenzglas 50—100 ccm titrierter Natriumsulfitlösung (1 ccm = 1 mg CH_3CHO) und danach Wasser bis die fünf ersten Gläser gefüllt waren, worauf man den Inhalt dieser Gläser unter Nachspülen in eine ca. 500 ccm enthaltende Flasche mit einem Glasstopfen zusammengofs. Diese blieb mindestens 2 Stunden im Dunkeln stehen und wurde hierauf mit $^1/_{10}$ Normaljodlösung titriert.

Tierversuche mit Acetaldehyd.

Die in die Kammer eingeprefste »Giftluft« wurde auf die Weise mit Acetaldehyd vermischt, dafs man es gleichmäfsig mit genügender Geschwindigkeit in eine dreifach tubulierte Wullf'sche Flasche mittels einer kühlgehaltenen Bürette mit Glashahn eintropfte. Das Einfliefsen geschah automatisch, wurde aber manuell kontrolliert. Dann wurde durch diese Flasche soviel Luft geprefst, dafs aller Acetaldehyd sich sofort verflüchtigte. Diese

mit Acetaldehyd gesättigte Luft wurde ständig in den Tierkasten gepreſst und zugleich die zur Ventilation nötige Reinluft eingesogen. Der Elektroventilator zur Mischung war stets tätig.

Was die Wirkung des Acetaldehyds beim Einatmen betrifft, so gibt es in der Literatur darüber nicht viel.

Boutigny[1]) beschreibt 1847 seine Empfindungen bei dem Verweilen in der Luft, die viel Aldehyd enthielt; es schien ihm, als ob sein Kopf frischer wurde und als fühlte er mehr Kraft und Beweglichkeit in seinen Gliedern, so daſs er sich beinahe ganz jung fühlte!

M. Poggiale[2]) weist darauf hin, daſs Acetaldehyd 45 Sekunden eingeatmet völlige Gefühllosigkeit hervorruft. Die Tiere bekamen nach 11 Minuten langem Einatmen eine Paralyse der Muskeln, aber ungefähr im Laufe einer $^1/_4$ Stunde hatten sie sich erholt. Das arterielle Blut roch deutlich nach Acetaldehyd.

Kunkel[3]) schreibt folgendes: »Einatmung der Acetaldehyddämpfe erzeugt schweres Erstickungsgefühl, Husten, erschwertes Atmen, sogar Stickanfälle.

Bei Tieren folgt auf längere Einatmung der Dämpfe zunächst ein deutliches Erregungsstadium, wonach vollständige Anästhesie. In dieser Zeit zeigt sich bedrohliche Abnahme der Respiration, Asphyxie und endlich Erstickung.«

Nach Kobert[4]) teilt der Azetaldehyd mit dem Formaldehyd die allen Aldehyden zukommenden reduzierenden und die lokal reizenden Wirkungen. In Bezug auf die dritte Wirkung der Aldehyde, d. h. in Bezug auf die gehirnlähmende, übertrifft er den Formaldehyd bei weitem. »Bei Einatmung seiner Entzündung erregenden Dämpfe hat man sofort das Gefühl, zu ersticken und muſs heftig husten. Bei Tieren folgt auf die Einatmung erst Excitation, dann Depression und Atemlähmung.«

(Tabelle VI S. 325—327.)

1) Comptes Rendus 1847, XXV, 904.
2) Comptes Rendus 1848, XXVI, 337.
3) Handbuch der Toxikologie 1901.
4) R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, 2. Aufl., II, 1, 98.

III. Akrolein (Allylaldehyd).

Analytische Bestimmung.

In der Literatur gibt es nur Angaben über den qualitativen Nachweis des Akroleins, keine quantitativen Bestimmungsmethoden.

Die bequemste und empfindlichste Reaktion ist die von Lewin vorgeschlagene.[1]) Diese Reaktion besteht in folgendem: Wenn man zu einer akroleinhaltigen Lösung Piperidin und Nitroprussidnatriumlösung zugibt, so entsteht eine grüne bis dunkelblaue Färbung, je nach der Menge des Akroleins.

Der Versuch, diese Farbenreaktion für eine kolorimetrische quantitative Bestimmung zu verwenden, schlug mir fehl, abgesehen davon, dafs es nicht so leicht ist, eine Akroleinlösung von ganz bestimmtem Gehalt als Testobjekt zu erhalten. Ferner wurde versucht, einige Oxydations- und Reduktionsmethoden anzuwenden, z. B. mit Kaliumpermanganat, Kaliumbichromat, Ammoniumpersulfat, alkalischer Jodkaliumlösung und alkalischer Silberlösung nach Tollens[2]); leider gingen die Reaktionen weder deutlich noch scharf vor sich, weshalb es auch unmöglich war, sich ihrer für quantitative Bestimmungen zu bedienen.

Bei Zugabe von J und danach NaOH zu einer Akroleinlösung trat (aber nicht immer) ein gelber Niederschlag auf. Beim Rücktitrieren des Jods mit $Na_2S_2O_3$ trat die Endreaktion nicht scharf und deutlich ein. Einige Minuten nach der Entfärbung begann wieder Jodausscheidung; die Ausscheidung ging bisweilen so weit, dafs fast die ganze Jodmenge durch Titrieren bestimmt werden konnte, z. B.

(Fortsetzung des Textes S. 328.)

---

1) Lewin, Über eine Reaktion des Akroleins und einiger anderer Aldehyde, B. 1899.

2) S. oben.

Tabelle VI. **Versuche mit Acetaldehyd.**

Nr. des Versuches	Tiergewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Azetaldehyd pro 1 l in Milligramm	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
II.	3600	$4^1/_4$	0,46 Erste $1^1/_2$ Stunden 0,42 weiter 0,50	Während des ganzen Versuches sitzt die Katze ganz ruhig. Anfangs Tränen und spärliche Speichelsekretion, die aber später vollständig aufhört. Augen fast ganze Zeit geschlossen. Respiration 18—20.	Im Zustand der Katze nichts auffallendes, fühlt sich vollständig gesund.	
III.	2650	3	1,79 Erste 2 Stunden 1,65 weiter 1,93	Sofort Niesen, dünnflüssige Speichelsekretion. Nach 28 Min. Respiration 24, nicht ganz regelmäfsig, stofsweise. Sperrt manchmal den Mund auf. Bis zum Ende des Versuches Halbschlaf. Hyperämie der Ohrenblutgefäfse.	Sofort nach dem Herausnehmen getrunken, einige Stunden später gefressen. Zwei Tage nach dem Versuch vollständig gesund.	
V.	1600	4	3,1 Erste $1^1/_2$ Stunden 2,4 weiter 3,8	1—80 Min. Unruhe. Unaufhörliche Speichelsekretion. Respiration anfangs 40, wird nachher langsamer. Ohren deutlich gerötet. Nach 105 Min. Respiration 22, stofsweise. Manchmal die Augen zu. Ruhe. Am Ende des Versuches geht die rote Farbe der Ohren in eine bläuliche über. Beim Atmen sperrt sie das Maul auf. Schläfrig.	Befinden nach dem Versuche nicht schlecht. Nach ein paar Tagen hat sie sich vollständig erholt.	

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nr. des Versuches	Tiergewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Azetaldehyd pro 1 l in Milligramm	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
IV.	2620	$3^1/_2$	3,3 Erste $1^1/_2$ Stunden 2,9 weiter 3,7	Sofort dünnflüssige Speichelsekretion, die bald dicker wird. Respiration 24—26. Husten. Nach 45 Min. Respiration 28. Die Ohren leicht gerötet. Nach 105 Min. Hustenanfall. Respiration 30, unregelmäſsig. Augen geschlossen. Etwas schläfrig. Zäher Speichel. Nach 130 Min. bis zum Ende des Versuches sitzt sie ganz ruhig im Halbschlaf. Augen geschlossen.	Das Befinden der Katze nach dem Versuche nicht schlecht. Geht aus dem Kasten selbst heraus. Nach ein paar Tagen gesund.	
VI.	2600	4	7,4 Die ersten $2^1/_4$ Stunden 8,0 weiter 6,8	1—5 Min. nichts auffallendes. Dann Speichelsekretion, Niesen. Nach 25 Min. Unruhe. Respiration 24. 35—70 Min. Dyspnoezeichen. Maulaufsperre. Kopf ist hintenüber nach dem Nacken gezogen. Husten. Reichlichere Speichelsekretion. Leidet sehr. Nach 100 Min. Respiration 20, tief, stoſsweise. Maulaufsperren und sonstige Dyspnoezeichen. Augen geschlossen. Etwas schläfrig. Nach 145 Min. lebhafte Unruhe. Starke Dyspnoe. Der Kopf ist stark nach dem Nacken gezogen und bewegt sich bei jeder Inspiration mit. Respiration 14 bis 16. Nach 185 Min. halbliegende Stellung. Fortdauernde reichlichere Speichelsekretion. Dyspnoe. Augen geschlossen. Halbschlaf. 190—210. Liegende Stellung, von Zeit zu Zeit heftige Unruhe, dabei steht sie auf. Am Ende dieser Zeit krampfhaftes Erbrechen von weiſser Flüssigkeit.	Das Befinden nach dem Versuche sehr schlecht, konnte nicht auf den Füſsen stehen. Am nächsten Tag schwere Atmung, Speichel, Appetitlosigkeit, Mattigkeit. Am vierten Tag das Befinden besser.	

				Nachher nimmt sie wieder liegende Stellung ein. Bis zum Schlusse des Versuches Status unverändert.		
1.	2600	1/4	24,5	Sofort nach dem Hineinsetzen starke Wirkung. Tränen, enorme Speichelsekretion, Niesen, Maulaufsperren. Nach 5 Min. lebhafte Unruhe. Ohren gerötet. Opistotomus. Nach 7 Min. krampfhafte Zuckungen der hinteren Extremitäten. Schreien. Würgen. Zunge ausgestreckt. Starke Dyspnoe. Nach 9 Min. blutige Speichelsekretion. Respiration 18, stofsweise. Krampfhaftes Zusammenziehen der Vorderbeine. Wackelt mit dem Kopf. Liegende Stellung. (Anfangs auf dem Rücken, nachher auf der Seite und dann wieder auf dem Rücken.) Nach 14 Min. beim Atmen Zuckungen des ganzen Körpers. Augen geöffnet, unbeweglich, bewufstlos. Nach 20 Min. fangen die Ohren an, sich bläulich zu färben. Keine Speichelsekretion. Liegt ohne Bewegung. Reagiert schon lange nicht mehr auf Klopfen. Tod ruhig, ohne Krämpfe und ohne besondere Symptome eingetreten.		Trachealepithel nicht abgelöst, aber mikroskopisch keine Flimmerbewegung, der in der Trachea enthaltene Schleim reagiert sauer. Die Lunge leicht hyperämisch, der linke Lappen stärker als der rechte. Einzelne kleine Hämorrhagien. Leichtes Ödem der Lungen, wie auch der perivaskulären Räume der Lungenblutgefäfse. Im Perikard wenig Exsudat. Die Herzohren mit Blutgerinnseln gefüllt. Im linken Herz Fibrinklumpen. Das rechte Herz fast leer, Leber normal, Nieren hyperämisch. Die Därme sind spastisch zusammengezogen. Hirnhäute ödematös. Ödem und Hyperämie des Gehirns. In den Ventrikeln kein Exsudat. Die vorgenommene Sektion hat gezeigt, dafs der Tod nicht auf die Lungenveränderungen, sondern auf die Lähmung der Atmung oder des Herzens zurückzuführen ist.

Tabelle VII.

Akroleinmenge	Angewandtes Jod ccm $\frac{1}{100}$ Normallösung	Gefundenes Jod bei der ersten Titration ccm $\frac{1}{100}$ Normallösung	Gefundenes Jod bei der nachfolgenden Titration ccm $\frac{1}{100}$ Normallösung	Verbrauchtes Jod ccm $\frac{1}{100}$ Normallösung
10 ccm Akroleinlösung A	20,0	11,2	7,8	1,0
10 » » A	30	6,7	2,6	20,7
10 » » A	20	8,3	2,7	9,0
10 ccm Akroleinlösung B	20	9,5	8,5	2,0
10 » » B	30	11,5	4,2	14,3

Die Oxydation mit $K_2Cr_2O_7$ in saurer Lösung gab auch äuſserst schwankende Resultate; dabei ging die Reaktion beim Erwärmen sehr viel schneller, doch war damit die Verflüchtigung eines Teiles des Akroleins verbunden. Bei Anwendung von $KMnO_4$ auf eine und dieselbe Menge des Akroleins war verbraucht 0,3—0,9 ccm $KMnO_4$-lösung; bei Anwendung saurer und alkalischer Lösungen stiegen die Differenzen bis 0,8—2,6 ccm für eine und dieselbe Menge der Akroleinlösung. Die Abscheidung von Ag aus Tollen'scher Lösung war stark nur bei verhältnismäſsig groſser Konzentration des Akroleins, weshalb auch dieses Verfahren für unsere Zwecke nicht anwendbar sein konnte.

Es wurde daher auch versucht, das Ripper'sche Verfahren zu benutzen, aber auch diese Versuche haben sich mir nicht bewährt, was auch zu erwarten war, da schon Richter eine Verbindung von Akrolein mit Kaliumbisulfitlösung für ausgeschlossen hält. Anderseits hat Müller[2]) eine Reaktion zwischen Akrolein und Natriumbisulfit beschrieben, und Rosenthal[3]) sogar die Formel auf Grund seiner quantitativen Analyse angegeben ($C_3H_6O_7S_2Na_2 + 4\,aqu$), das heiſst auf 1 Akrolein 2 Natriumbisulfit.

Ich glaubte im Anfang aus diesen Angaben schlieſsen zu müssen, daſs sich beim Titrieren 1 Mol. Akrolein 2 Mol. Natrium-

1) Richter, Chemie der Kohlenstoffverbindungen.
2) Ber. d. D. Ch. G. VI S. 445.
3) Annalen d. Chemie 233, 36.

bisulfit zum Verschwinden werde bringen können. Ich stelle mir zur Prüfung dieser Annahme:

$$56 \text{ mg Akrolein} = 208{,}2 \; NaHSO_3 = H\, 126{,}8 \; J$$

eine Lösung von $NaHSO_3$ mit $\frac{208{,}2}{56} = 3{,}718$ mg Natriumbisulfit in 1 ccm, und eine Jodlösung mit $\frac{4 \cdot 126{,}8}{56} = 9{,}044$ mg her. Jeder Kubikzentimeter Sulfit, und Jodlösung hätte dann 1 cg Akrolein enstprechen müssen.

Aus einer Kahlbaumschen Akroleinlösung mit 33% Akrolein in Alkohol stellte ich mir alkoholische Verdünnungen her und machte folgende Bestimmungen:

1. 83 mg Akrolein (aus der Kahlbaumschen Angabe berechnet) mit 100 ccm obiger Bisulfitlösung versetzt, brauchte in 3 verschiedenen Versuchen 58, 57,5, 57,2 ccm, im Durchschnitt 57,6 ccm Jodlösung zur Entfärbung. Es wird also 100 — 57,6 = 42,8 mg Bisulfitlösung verbraucht, die 42,8 mg Akrolein entsprechen.
2. Ebenso wurden statt 33,0 mg berechneten Akroleins 16,2 mg, statt 33,0 mg 16,08 gefunden, d. h. es bindet offenbar ein Mol. Akrolein nicht 2 Natriumbisulfit, sondern nur 1 Mol.

Sowie wir dies annehmen, haben wir die gefundenen Akroleinzahlen der obigen Beispiele zu verdoppeln, und nun stimmen die Resultate sehr gut.

Damit soll nicht bestritten sein, daſs die von Müller und Rosenthal erhaltene Verbindung mit 2 Mol. Bisulfit unter den von diesen Forschern gewählten Versuchsbedingungen wirklich entsteht — unter den üblichen Bedingungen der Titrierungen entsteht sie entweder nicht oder das zweite gebundene Bisulfitmolekül verhält sich genau so, als ob es frei in der Lösung wäre.

Im folgenden ist stets angenommen, daſs 1 Mol. Akrolein 1 Mol. Bisulfit bindet, wie dies alle übrigen Aldehyde tun.

Durch eine Reihe von Experimenten habe ich die Versuchsbedingungen, innerhalb deren eine sichere Akroleintitrierung möglich ist, noch näher ermittelt.

1. Die Konzentration von Akrolein darf zwischen 1 : 100000 und 1 : 1000 schwanken.

2. Die Akroleinmenge darf höchstens 100 mg betragen.

3. Die titrierten Lösungen von Natriumbisulfit und Jod sollen so eingestellt werden, dafs 1 ccm von diesen Lösungen gleich 1 mg Akrolein ist.

4. Man soll von der Natriumbisulfitlösung etwa $1^1/_2$mal so viel nehmen als zur Sättigung des Akroleins nötig ist; diese Menge mufs man aus Vorversuchen bestimmen.

5. Nach dem Zumischen der nötigen Bisulfitmenge soll das Gemisch mindestens sechs Stunden im Dunkeln stehen bleiben.

6. Man setzt danach 1 ccm (1 : 100) Stärkekleister hinzu und titriert mit Jod, bis eine Blaufärbung eintritt, die 15 Minuten anhält.

7. Man bestimmt den Titer vom Natriumbisulfit durch Kaliumbichromat und den von Jod mittels Natriumbisulfit.

Die nötige Menge von Kaliumbichromat wird folgenderweise berechnet:

56 CH_2CHCHO brauchen 104,1 $NaHSO_3$.

104,1 $NaHSO_3$ brauchen $2 \times 126{,}85$ J.

295 gt $K_2Cr_2O_7$ treiben aus saurer JK-lösung $6 \times 126{,}85$ gt J aus. Also:

$$56\ CH_2CHCHO - 104{,}1\ NaHSO_3 - 2 \times 126{,}85 - \frac{295}{3}\ K_2Cr_2O_7,$$

$$\text{oder}\quad 1\ g\ CH_2CHCHO = \frac{104{,}1}{56}\ NaHSO_3 = \frac{126{,}85}{28}\ J = \frac{295}{3 \times 56}\ K_2Cr_2O_7.$$

Also es müssen 1,541 g $K_2Cr_2O_7$ in 1 l aufgelöst werden, damit 1 ccm dieser Lösung so viel Jod aus KJ bei Gegenwart von Schwefelsäure austreibt, dafs zu seiner Bindung ebensoviel Natriumbisulfit wie für die Bindung von 1 mg Akrolein nötig wäre. Mit diesen kleinen, aber nicht unwichtigen Modifikationen ist es

möglich, die Ripper'sche Methode zur quantitativen Bestimmung von Acetaldehyd und Formaldehyd in der Luft auch für die Bestimmung von Akrolein anzuwenden. Die Absorption des Akroleins aus der Luft geschah mit der gleichen Kombination von Absorptionsgläsern wie beim Formaldehyd und Acetaldehyd, nur mit dem Unterschiede, dafs die Absorptionsröhren für Akroleinbestimmung statt mit Wasser mit 96% Alkohol gefüllt wurden (je 20 ccm). Dies hatte den Zweck, das absorbierte Akrolein vor Oxydation unter dem Einflufs des Luftstromes zu schützen. Nach dem Durchsaugen wurde der Inhalt sämtlicher absorbierender Röhren in eine Flasche von 600—800 ccm mit einem Glasstopfen gegossen; danach wurde soviel Wasser hinzugefügt, dafs der Alkoholgehalt nicht 40% überschritt. Schliefslich gab man dazu die nötige Menge von titrierter Natriumbisulfitlösung; die weitere Bestimmung erfolgte auf oben erwähnte Weise. Bei sämtlichen Versuchen kam zur Verwendung eine 33-proz. Akroleinlösung von Kahlbaum in Berlin geliefert. Akrolein wurde in die Atmosphäre der Kammer auf dieselbe Weise wie bei Acetaldehydversuchen eingeführt.

Tierversuche mit Akrolein.

Die einzig eingehenden Studien über Akrolein verdanken wir Lewin[1]), der an verschiedenen Tieren experimentiert hat und auch Inhalationsversuche vorgenommen hat, allerdings ohne quantitative Bestimmung des Akroleingehaltes der Luft, so dafs vom fabrikhygienischen Standpunkt aus eine Bearbeitung des Akroleins erwünscht ist. Die wichtigsten Resultate der Lewinschen Arbeit an Tieren sind folgende: Bei Einatmung traten sehr starke Reizerscheinungen der Lunge und der Schleimhäute auf; bei schwächeren Dosen sind auch narkotische Wirkungen deutlich, bei stärkeren Dosen hinderten die Dyspnoea die Ausbildung einer deutlichen Narkose. Bei subkutaner Injektion gibt es hämorrhagische Entzündungen nicht nur am Orte der Injektion, sondern auch in der Lunge, hervorgerufen durch den

1) Lewin, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 1900.

Akroleingehalt des Blutes. Lewin konnte geradezu pneumonische Erscheinungen durch subkutane Injektion hervorrufen. Das Herz des Warmblüters leidet nicht auffallend, die Gefäſse erweitern sich, im Tode sind neben den Veränderungen der Respirationsorgane wohl auch cezebrale Einflüsse von Bedeutung.

An sich selbst hat Lewin auch einige Beobachtungen gemacht. Die unverletzte Haut wird nicht gereitzt, auf der verletzten Haut und den Schleimhäuten wirkt es sehr stark reizend; über das Verhalten zur Atmung sagt Lewin, wobei er natürlich von schwachen Konzentrationen spricht: »Akrolein kann man einatmen, aber man hat schon nach ganz kurzer Zeit das Bestreben, nicht mehr oder selten zu atmen, weil die Empfindung herrscht, daſs die Lungen mit den Dämpfen angefüllt sind. Trotz dieser unangenehmen Empfindung atmet man weiter und nimmt bei den erheblichen Mengen der Dämpfe in der Atmungsluft leichtes Schwindelgefühl und wohl auch etwas Benommensein und stärkeren Blutandrang zum Kopfe wahr.« Nach längerem Einatmen einer Akroleinmenge bildete sich allmählich bei Lewin ein quälender Katarrh der hinteren Rachenwand, des Kehlkopfes und der Luftröhre aus, auch etwas Magendrücken, Durchfall und leichtes Leibschneiden. Über einige andere Versuche muſs ich auf die Arbeit von Lewin hinweisen, die durch meine quantitativen Versuche in allem wesentlich bestätigt werden. An mir selbst habe ich keine Erfahrungen gesammelt, da ich die Ausbreitung der Dämpfe in der Laboratoriumsluft vermied.

Lewin ist auf Grund seiner Versuche mit Akrolein an Tieren zu dem Schlusse gekommen, daſs das Akrolein eine eigenartige Giftigkeit besitzt, und daſs seine tödliche Dosis 0,15—0,2 g pro Kilo Tier beträgt. Die giftige Dosis liegt viel niedriger. Es nimmt aber, wie Lewin weiter angibt, insofern eine besondere Stellung ein, »daſs es ohne erkennbar das Gewebeeiweiſs chemisch zu alterieren, doch biologisch Veränderungen hervorruft, die denjenigen nahestehen oder sie gar noch übertreffen, die der Formaldehyd veranlaſst, das Akrolein verursacht aber nicht nur

ätzende, sondern auch cezebrale Wirkung, aber ohne Krämpfe hervorzurufen.«

Auf die Bedeutung des Akroleins in der fabrikhygienischen Praxis will ich nicht näher eingehen, da mir persönliche Erfahrungen fehlen. Es sei nur bemerkt, daſs es bei zu starkem Erhitzen von Fetten in der Küche, in der Talgschmelzerei, bei der Seifen- und Kerzenfabrikation aus dem Glyzerin sich entwickelt.

Tierversuche mit Akrolein.

Die Methodik war wie beim Azetaldehyd, ich verdampfte im Preſsluftstrom in der Zeiteinheit gemessene gleiche Mengen von Akrolein, indem ich in den vom Luftstrom durchblasenen Kolben gemessene Akroleinmengen alle 5 Minuten einflieſsen lieſs. Die Versuche gibt folgende Tabelle (S. 334—337).

Hauptergebnisse der Arbeit.

1. Analytische Ergebnisse.

a) Das schnellste und genaueste Verfahren zur quantitativen Formaldehydbestimmung in seinen wässerigen Lösungen ist das Romjin'sche Verfahren. Dasselbe Verfahren gibt auch die besten Resultate bei Formaldehydbestimmung in der Luft, wenn man zur Formaldehydabsorption statt titrierter Jodlösung destilliertes Wasser verwendet.

b) Die Ripper'sche Methode zur Acetaldehydbestimmung in wässerigen Lösungen ist unter Anwendung von $NaHSO_3$ statt $KHSO_3$ die einfachste und genaueste unter allen anderen Methoden. Die besten Resultate der Azetaldehydbestimmung in der Luft bekommt man bei Anwendung von destilliertem Wasser statt Bisulfitlösung zur Acetaldehydabsorption.

c) In verdünnten Lösungen kann Akrolein mit genügender Genauigkeit nach einem Verfahren ähnlich dem von Ripper bestimmt werden. Auch hier muſs $NaHSO_3$ statt $KHSO_3$ verwendet werden, zur Absorption aber Alkohol.

(Fortsetzung des Textes S. 338.)

Tabelle VIII. **Versuche mit Akrolein.**

Nr. des Versuches	Gewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Akrolein pro 1 l	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
II.	2000 war zusammen mit VIII	$3^1/_2$	0,025 Erste 2 Stunden 0,027 weiter 0,023	Sofort etwas Tränen, zähe Speichelsekretion, Lecken, Niesen. Nach 135 Min. Respiration 19, Speichel fliefst nicht immer. Augen geschlossen. Ruhe. Nach 135 Min. Atmet unter Maulaufsperren, Kopf im Nacken. Etwas schläfrig. Bis zum Schlusse des Versuches nichts neues, später wenig Speichel.	Nach kurzer Zeit scheint die Katze normal zu sein.	
III.	2000 war zusammen mit Nr. 7	$9^2/_3$	0,025 Erste 2 Stunden 0,027, folgende 4 Stunden 0,030, weiter 0,020	Erste 105 Min. ruhige Lage. Respiration 14—16. ReichlicheSpeichelsekretion. Augen geschlossen. Nach 155 Min. Kopf etwas nach dem Nacken gezogen. Augen geschlossen. Etwas schläfrig. Nach 305 Min. leichte Brechbewegungen. Bis zum Schlufs des Versuchs sitzt sie ganz ruhig, zeitweise im Halbschlummer. Respiration 16.	Einige Stunden nach dem Versuch scheint die Katze ganz normal zu sein.	
IV.	2400	4	0,04 Erste $2^1/_2$ Stunden 0,034, weiter 0,046	Sofort Tränen, Speichelsekretion, Niefsen. Nach 10 Min. Nasensekretion. Respiration 16. Augen geschlossen. 15—150 Min. Leichte Brechbewegungen, aber kein Erbrechen. Unaufhörliche reichliche Speichelsekretion. Respiration18—20, zeitweise unter Maulaufsperren. Nach 160 Min. bis zum Schlufs des Versuches häufig Würgen, aber kein Erbrechen. Etwas Dyspnoe, Nasensekretion, Speichelsekretion spärlicher.	Einige Tage war das Tier krank, erholte sich aber wieder.	

V.	1750	$2^2/_3$	0,21 Erste Stunde 0,24, weiter 0,18	Sofort Tränen, anfangs dünnflüssige, dann dickflüssige zähe Speichelsekretion. Husten, Niesen. Nach 10 Min. Respiration 12—16, von Schlucken unterbrochen. Maulaufsperren. Zunge ausgestreckt. Unaufhörliche Speichelsekretion. Nach 40 Min. Husten, Kopf im Nacken. Respiration 20, stofsweise. Nach 80 Min. Bei der Atmung bewegt sich der Kopf bei jeder Inspiration mit. Deutliche Dyspnoezeichen. Nach 85 Min. bis zum Schlufs des Versuches krampfhaftes Niesen. Würgen, starke Dyspnoe.	Erste Tage nach dem Versuche war das Tier krank. Reichliche Nasen- und Speichelsekretion. Atmung mit Geräusch. Nach wenigen Tagen hat sich das Tier doch erholt.	
VI.	3200	$2^1/_4$	1,57 Erste Stunde 1,76, weiter 1,38	Sofort Niesen, Tränen, Speichelsekretion. Nach 10 Min. Reichliche zähe Speichelsekretion. Starkes Tränen, Respiration 20, zeitweise unter Maulaufsperren. Aussehen niedergeschlagen. Nach 40 Min. Nasensekretion. Starke Unruhe. Dyspnoe. Nach 60 Min. Aus dem Munde der Katze entweicht sichtbarer Dampf. Nach 80 Min. Lebhafte Unruhe. Starke Dyspnoe. Bis zum Schlusse des Versuches liegt sie ausgestreckt. Maul wird die ganze Zeit offen gehalten. Die Nase völlig mit Schleim verstopft. Respiration 8—10. Starke Dyspnoe. Der Kopf bei jeder Inspiration stärker in den Nacken gezogen. (Orthopnoe.)	Nach der Herausnahme konnte sie nicht auf den Füfsen stehen. Sehr schwere Atmung. 18 Stunden nach dem Versuch gestorben. Während des Versuches hat es 300 g abgenommen.	Mund offen. Zunge ausgestreckt. Enormes Lungenödem, namentlich der Unterlappen, die aufserdem starke Hyperämie und blaurote Farbe zeigen. Die mittleren und Oberlappen sind normaler, aber stark emphysematös und von vermehrtem Flüssigkeitsgehalt. In den rechten Oberlappen dunkelrote Herde, wahrscheinlich Blutungen. Auch im mittleren und oberen Lappen kleine Blutungen. Eine Niere normal, andere vollständig teratologisch unentwickelt. Die Trachealschleimhaut läfst sich abheben. Magen leicht aufgebläht, Harnblase leer.

Tabelle VIII (Fortsetzung.)

Nr. des Versuches	Gewicht in Gramm	Versuchsdauer in Stunden	Gehalt der Kastenluft an Akrolein pro 1 l	Verhalten der Katze während des Versuches	Schicksal der Katze	Sektionsergebnisse
VII.	3200	2 1/2	1,98 Erste 1 1/2 Stunde 1,88, weiter 2,08	Sofort Speichelsekretion, sehr reichlich zähe. Nach 5 Min. Respiration 12, stofsweise unter Maulaufsperren, von Schlucken begleitet. Nach 20 Min. Zittern. Nach 30 Min. Lebhafte Unruhe. Das Tier leidet sehr. Nach 50 Min. Respiration 30—32 stofsweise. Nimmt liegende Stellung ein. Nach 65 Min. Dyspnoe. Nach 80 Min. Starke Dyspnoe. Respiration 30. Nach 100 Min. Respiration 22. Lebhafte Unruhe. Krankes Aussehen. Nach 120 Min. Rückenlage. Fortdauernde Harnentleerung (tropfenweise) Magen aufgebläht. Kann nicht aufstehen. Bis zum Ende des Versuches starke Dyspnoe. Die letzten Minuten Erstickungskrämpfe. Tod ruhig.	Während des Versuches hat das Tier 450 g im Gewicht abgenommen.	Lunge stark hyperämisch. Weniger ödematos als im Versuch VI, aber sehr deutlich, die mikroskopische Untersuchung würde wahrscheinlich Blutungen ergeben. Obere Teile der Lungen stark emphysematös. Im rechten Herz weifses und dunkles dickes Fibringerinnsel, das das Herz so ziemlich ausfüllt. Magen stark aufgebläht. An den Nieren nichts Auffallendes. Mageninhalt gibt keine Akroleinreaktion. Harn gibt mit Lewin's Reagens rosa-violette Färbung, ähnlich der Färbung die Akrolein mit diesem Reagens in Gegenwart von Natronlauge gibt.
I.	1850	2	2,62 Erste 2 Stunden 2,58, weiter 2,64	Sofort nach dem Hineinsetzen starke Wirkung: Katze schliefst die Augen zu, sperrt das Maul auf. Tränen. Enorme Speichelsekretion. Starke Unruhe. Nach 20 Min. Respiration 26. Singultus. Nach 60 Min.	Stirbt sofort nach der Herausnahme.	Es ist unmöglich, mit dem wässrigen Mageninhalt eine Akroleinreaktion mit Nitroprussidnatrium zu erhalten. In der Brusthöhle ein Kaffee-

			Zunge aus dem Munde herausgestreckt. Dyspnoe. Singultus. Nach Nach 75 Min. Stuhlgang von normaler Konsistenz. Augen geschlossen. Liegende Stellung. 80—120 Min. Respiration 20. Hält sich schlecht auf den Füfsen. Starke Dyspnoe. Am Schlusse des Versuches etwas soporös.		löffel seröser Flüssigkeit. Herzblut merkwürdig dünnflüssig. Die ganze Lungenwurzel, insbesondere die Gefäfse, von sehr stark ödematösen Bindegeweben umgeben. Unterhalb der Stimmbänder löst sich das Epithel auf eine Länge von 3 cm als fetzige Membran ab; auch weiter unten lassen sich grofse fetzende Epithels abziehen. Aus dem unteren Teil der Trachea fliefst schleimige Flüssigkeit. Trachealgefäfse stark erweitert. An den Baucheingeweiden ist nichts Auffallendes zu sehen. Dickdarme etwas injiziert. In der Nase starke Rötung, Schleimhaut fetzig abgestofsen. In den Fetzen der Bronchialschleimhaut sind sehr viele Leukozyten und rote Blutkörperchen vorhanden. Enormes Ödem und vicariierendes Emphysem der stark hyperämischen Lunge. Die mikroskopische Untersuchung hat wieder rote Blutungen ergeben.

2. Toxikologische Ergebnisse.

Von den drei untersuchten Aldehyden wirkt der Acetaldehyd am wenigsten stark und giftig.

Die Dosis von 0,5 mg pro 1 l Luft hat auf das Tier selbst in 7 Stunden keine Wirkung. Wird die Dosis bis ca. 2 mg pro 1 l vergröfsert, so sind Reizungen der Schleimhäute der Luftwege zu beobachten. Aber bald nach dem Schlufs des Versuches, selbst wenn er 3—4 Stunden gedauert hat, verschwinden sie wieder. Bei der Dosis von 3—7 mg wird die Wirkung so grofs, dafs die Tiere zur Erholung mehrerer Tage bedürfen. Diese Dosis wirkt etwas narkotisch. Die binnen 1—2 Stunden tödliche Dosis beträgt ca. 20 mg pro 1 l Luft, die Todesursache ist mehr in cerebraler Wirkung als in Erzeugung von Lungenödem und Entzündung zu sehen. Das Auftreten von Fibrinklumpen im Herzen deutet auf beginnende Blutgerinnung im lebenden Tier. Immerhin beweisen die Erfahrungen an Tier IV, dafs auch Acetaldehyd Lungenreizung macht. Doch ist der Unterschied gegenüber der enorm reizenden Wirkung des Formaldehyds und auch der des Akroleins sehr auffällig. Formaldehyd wirkt beträchtlich stärker als Acetaldehyd. Erreicht die Dosis höchstens bis 0,25 mg ($3^1/_2$ Stunden), so ist die Wirkung so gering, dafs die Tiere sich nach einigen Stunden und keines ohne bleibenden Schaden wieder erholen. Nach der Dosis von 0,8 mg (4 Stunden) tritt die Erholung erst nach einigen Tagen ein, weil eine Anätzung der Respirationsorgane erfolgt ist. Die Dosis über 0,8 mg und bis 2 mg wirkt so ätzend auf die Lunge, dafs sich Lungenödem, Hyperämie, Blutungen, Emphysem ausbilden, woran sich später durch Eindringen von Bakterien pneumonische und eitrige Prozesse anschliefsen. Die Pneumonie wird so stark, dafs die Tiere gewöhnlich daran zugrunde gehen. Auch fibrinöse Bronchitis ist einmal beobachtet; in den andern Fällen war das Trachealepithel nicht auffallend verändert. Bei der höheren Dosis ca. 6 mg (3 Stunden) kommt zu der Ätzwirkung auf Lunge und Kornea die narkotische Wirkung hinzu. Die Tiere sterben einige Stunden nach dem Versuche in erster Linie durch Lungen-

veränderungen. Die rasch tödliche Dosis ist ca. 10 mg per 1 l ($3^1/_2$ Stunden). Bei der höchsten Dosis ist auch einmal Auflösung von Blutkörperchen und blutige Färbung des Kammerwassers beobachtet. Es tritt aber die Ätzwirkung auf die Lunge so in den Vordergrund, dafs bei allen leichteren Formalinvergiftungen diese die einzige Gefahr darstellt. Bei allen Tieren, die der Wirkung des Formaldehyds unterworfen waren, ist Appetitlosigkeit bemerkt worden, selbst wenn die Wirkung nur schwach war. (Magenstörung durch verschlucktes Formaldehyd).

Akrolein ruft schon bei der minimalstenDosis (0,025 mg) eine Reizwirkung, Speichelsekretion, Lecken, Augentränen, Nasensekretion, leichte Narkose hervor. Die Dosis über 0,04 mg pro 1 l Luft übt auf die Tiere schon so starke Reizwirkung aus, dafs sie zur Erholung einige Tage brauchen. Sie zeigen aufser den oben erwähnten Wirkungen noch Brechreiz; Respirationsstörungen sind noch nicht auffällig, leider fehlt hier die Sektion eines Tieres wie Nr. 4.

Bei 0,2 mg sind die Lungenreizungserscheinungen unverkennbar, offenbar schmerzhaft, die Hilfsmuskeln treten in Tätigkeit. Die Dosis von 1,5 mg schädigt das Tier sehr schwer, es stirbt 18 Stunden nach $2^1/_4$ stündigem Aufenthalt an Lungenödem und Lungenblutungen; bei 1,98 mg tritt nach $2^1/_2$ Stunden der Tod ein. Es ist deutlich, dafs bei den schmerzhaft empfundenen höheren Dosen die offenbar bescheidene narkotische Wirkung des Giftes nur undeutlich in die Erscheinung tritt.

Ich bin mir sehr wohl bewufst, dafs eine Vermehrung der Tierversuche, namentlich die Anstellung von Versuchen mit sehr schwachen Dosen und längerer Versuchszeit den Wert meiner Arbeit vermehrt hätte, die gewissenhafte Ermittlung praktischer analytischer Methoden für die Luftuntersuchung auf die drei Körper hat aber leider so viel von meiner knapp bemessenen Aufenthaltszeit in Würzburg in Anspruch genommen, dafs ich mit den vorliegenden Tierversuchen vorläufig abschliefsen mufste, zumal zwei Wochen lang überhaupt keine Katzen zu bekommen waren. Es wird nun ein leichtes sein, mit den vorliegenden Methoden weitere Fragen in Angriff zu nehmen, wozu ich bald

Zeit zu finden hoffe. Dabei hoffe ich auch einige noch nicht genügend aufgeklärte Punkte der Pathologie weiter zu beleuchten.

Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann meinen tiefgefühlten Dank für seine äufserst liebenswürdige Anregung und Unterstützung, die mir die Arbeit angenehm machte und die rasche Erledigung derselben ermöglichte, zum Ausdruck zu bringen.

Den Herren Assistenten Dr. H. K. Lang, Privatdozent Dr. Treutlein, Dr. H. Schütze und Dr. Gundermann spreche ich meinen aufrichtigen Dank für ihre liebenswürdige Bereitwilligkeit, mir Hilfe zu leisten, aus.

Untersuchungen über die Vibrioneninfektion des Meerschweinchens.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dr. **S. Suzuki.**

(Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der deutschen Universität Prag.)

Will man sich über die Möglichkeit und das Zustandekommen einer Infektion, d. h. der erfolgreichen Ansiedelung und Vermehrung eines Mikroorganismus im lebenden Tierkörper Klarheit verschaffen, so ist es erforderlich, dafs man einerseits diejenigen Mittel kennt, welche der bedrohte Mikroorganismus zu ihrer Abwehr besitzt, anderseits aber jene, welche der infizierende Mikroorganismus zur Paralysierung dieser Verteidigungswaffen aufzubringen vermag. Man mufs sich dessen bewufst sein, dafs jede Infektion, unter welcher zunächst nur die Ansiedelung und selbständige Vermehrung eines Bakteriums im lebenden Tierkörper ohne Rücksicht zunächst auf die etwa nachträglich entstehende Krankheit zu verstehen ist, ein ganz ungewöhnliches Ereignis bedeutet, eine Ausnahme von der Regel, wonach die lebendige Substanz von dem Eindringen der überall vorhandenen Bakterien frei bleibt. Die Ursache davon kann aber in nichts anderem als in dem Bestehen und der beständigen Tätigkeit von antibakteriellen Kräften im Organismus liegen, die erst mit eingetretenem Tode ihre Funktion einstellen, worauf

der Körper sofort der Invasion und Zersetzung durch Mikrobien verfällt. Wenn gewisse infektiöse Bakterien gleichwohl die Fähigkeit haben, schon während des tierischen Lebens im Körper zur Vermehrung zu gelangen, so müssen ihnen gegenüber die sonst so wirksamen Schutzmittel des Organismus versagen, wofür nur zwei Erklärungsmöglichkeiten vorliegen: entweder sind die betreffenden Bakterien dem Angriffe der Schutzkraft unzugänglich, sei es, dafs sie dies schon von vornherein sind oder dafs sie es infolge der Annahme eines besonderen Zustandes während der Infektion werden können, oder sie besitzen ihrerseits Mittel, Angriffswaffen, Aggressine, welche die Aufhebung der Körperschutzkräfte herbeizuführen imstande sind. In jedem Falle, wo man dem Verständnisse einer bestimmten Infektion näher kommen will, wird man das Studium mit der Aufsuchung der Schutzkräfte beginnen müssen, welche einem bestimmten Versuchstiere gegen den betreffenden Bazillus zur Verfügung stehen, um sodann zu ermitteln, auf welche Weise dieser ihnen entgehen kann, um dadurch zur erfolgreichen Ansiedelung zu gelangen.

Nun lehrt eine sehr ursprüngliche Erfahrung, dafs die Infektionen einer bestimmten Tierart, z. B. des Meerschweinchens, sehr verschieden leicht zu erreichen sind und auch sehr verschieden verlaufen, je nach der Art des Infektionserregers. Während die Infektion mit Milzbrandbazillen fast auf jede Weise und mit der kleinsten Bazillenmenge gelingt, bedarf es dazu bei Vibrionen einer bestimmten Impfmethode mit Einbringung einer stets gröfseren Zahl von Keimen; während der Milzbrandbazillus sich unbeschränkt über den ganzen Organismus ausbreitet, beschränken die meisten Vibrionen ihre Vermehrung wesentlich nur auf den Impfort. Diese fundamentalen Unterschiede können ihre Ursache nur in einem ganz verschiedenen Verhalten der zu diesen Infektionen gelangenden Mikroorganismen haben: die Beziehungen, welche zwischen dem Meerschweinchenkörper und dem Milzbrandbazillus von vornherein bestehen oder sich während der Infektion herstellen, müssen ganz andere sein als die zwischen dem Meerschweinchen und Vibrionen, und diese

Beziehungen auch in ihren Details verstehen, heifst dem Verständnisse des Wesens der einzelnen Infektionen näherkommen.

Der Gang einer derartigen Untersuchung ist von selbst gegeben. Es mufs zunächst ermittelt werden, welche Körpereinflüsse als Schutzmittel gegen die betreffenden Bakterien angesehen werden können. Das, was wir bis heute über solche wissen, bezieht sich so gut wie ausschliefslich auf direkt antibakterielle, in der Mehrzahl keimtötende Fähigkeiten, die an Körpersäfte und an Zellen nach Art der Leukozyten geknüpft sind. Dabei ist es aber gut, sich von der Einseitigkeit fernzuhalten, welche naturgemäfs dadurch entstehen mufste, dafs man bisher Jahre dem ziemlich nutzlosen Streite darüber gewidmet hat, ob die Säfte oder die Zellen das einzige, mindestens das superiore Kampfmittel des Organismus seien. Der Tierkörper hat eben beide und wendet auch beide unter allen Umständen an, und es war ein sehr bedeutungsvoller Fortschritt, als man erkannte wie die Kombination beider in ihren verschiedenen Möglichkeiten Leistungen hervorbringt, zu denen weder die blofsen Säfte noch die isolierten Zellen befähigt sind; die Opsonine, wie die ohne Phagozytose verlaufende Leukozytenbakterizidie liefern dafür Beispiele. Dafs neben diesen direkt bakterientötenden Kräften im Körper noch andere Schutzmittel bestehen, hauptsächlich solche, welche nicht geradezu das Leben der Bakterien in kurzer Zeit vernichten, sondern deren Vermehrung beschränken und hindern und so indirekt an ihrer Beseitigung mitwirken, wird immer wahrscheinlicher. Da aber hierfür zurzeit ein zwingender Beweis noch nicht zu erbringen ist, mufs man vorläufig mit den bekannten Körperkräften auszukommen versuchen.

Ist einmal die Wirkungsmöglichkeit der Schutzmittel gegen einen Bazillus ermittelt, so darf man nicht der neuerdings genauer studierten und sicher überaus bedeutungsvollen Tatsache vergessen, dafs Bakterien im Tierkörper während der Infektion im lebenden Tierkörper Zustände annehmen können, die von dem Zustande, den sie bei ihrem saprophytischen Leben auf künstlichen Kulturen haben, sehr abweichen und physiologische

Besonderheiten bedingen. Diese Ermittelungen können der Hauptsache nach im zweckmäfsig geleiteten Reagenzglasversuche gemacht werden, der aber nur dann wirklich wertvoll ist, wenn er durch die Ergebnisse des Tierversuches, der stets übergeordnet bleibt, kontrolliert wird. Bisweilen stimmen beide überein, oft aber auch nicht, und dann kann die Untersuchung des Grundes der Nichtübereinstimmung die wertvollsten Ergebnisse haben. So ergab eine kürzlich von Bail und Weil durchgeführte Untersuchung der Milzbrandinfektion des Meerschweinchens, dafs der Milzbrandbazillus im Tierkörper bekanntlich in einen eigenartigen, durch das Auftreten einer Kapsel ausgezeichneten Zustand übergeht und in diesem der Phagozytose unzugänglich wird, deswegen doch der aphagoziden Wirkung der Leukozyten unterliegt, dafs er aber trotzdem im Tiere nicht zugrundegehen kann, weil er die Fähigkeit annimmt, Stoffe (Aggressine) zu bilden, die die bakterizide Wirkung der Zellen paralysieren, und von diesen Ermittelungen aus liefs sich das Zustandekommen und der Verlauf der Infektion ziemlich vollständig erklären.

Auf die Bildung solcher auch im Reagenzglasversuche nachweisbaren Aggressine wird man also ebenfalls achten müssen.

Die Ausdehnung derartiger Versuche auf die Gruppe der Halbparasiten war der Zweck der vorliegenden Arbeit. Unter Halbparasiten hat man jene grofse Gruppe von Infektionserregern zu verstehen, deren Infektiosität sich im Tierversuche als eine beschränkte erweist. Man erkennt dies einerseits daran, dafs zur erfolgreichen Infektion stets, eine oft sehr beträchtliche Vielzahl von Bakterien nötig ist, wobei überdies oft auch noch bestimmte Infektionsweisen erforderlich werden, anderseits daran, dafs auch die erfolgreiche Infektion sich nicht über den ganzen Tierkörper ausbreitet, sondern auf eine Stelle desselben, meist den Infektionsort im wesentlichen beschränkt bleibt. Die sich daran anschliefsende Infektionskrankheit ist aber in der Regel von sehr schwerer Art und trägt den Charakter einer Vergiftung durch die an sich giftigen Bakterienleibessubstanzen.

So scharf auch der Unterschied der typischen Vertreter dieser Gruppe gegen die reinen Parasiten ausgesprochen ist, jene Bak-

terien also, die wie der Milzbrandbazillus schon in der geringsten Individuenzahl und fast bei jeder Infektionsart zur Ansiedelung kommen und in der Infektion eine unbeschränkte Ausbreitung über den ganzen Tierkörper erlangen, ohne daſs dabei Toxine oder Endotoxine nachweisbar wären, so ist doch in anderen Vertretern der Halbparasiten der Unterschied insofern verwischt, als manche derselben im Laufe fortgesetzter Tierpassagen eine Infektiosität erlangen können, die jener des Milzbrandbazillus wenig nachgibt, wenn sie dabei auch stets labiler Natur bleibt.

Es stellte sich heraus, daſs auch der als Studienobjekt zunächst gewählte Vertreter der Vibrionengruppe, der Metschnikoffsche Vibrio, sich durch beständigen Aufenthalt im Tierkörper den Parasiten nähern kann.

Über das Verhalten des Metschnikoffschen Vibrio gegen die Verteidigungsmittel des Tierorganismus liegen bereits Angaben und Versuche von Pettersson vor.[1]) Er stellte fest, daſs sein Stamm von Serum von Meerschweinchen allein und in Verbindung mit lebenden Leukozyten stark abgetötet wurde. Inaktiviertes Serum und Bouillon waren weder in Verbindung mit Leukozyten noch als Extraktionsmittel für deren bakterizide Substanzen wirksam. Der von uns verwendete Stamm zeigte, wie gleich bemerkt werden soll, bei Einsaat von Kulturbazillen genau das gleiche Verhalten. Pettersson untersuchte ferner das Verhalten der Vibrionen im Tierkörper und fand, daſs die Injektion von Leukozyten in ein normales Tier, besonders dann, wenn sie gleichzeitig mit Immunserum vorgenommen wird, eine sehr starke Schutzwirkung ergibt, und zwar wirkten sowohl Meerschweinchen, wie Kaninchenleukozyten im gleichen Sinne. Gleichwohl spricht Pettersson, obwohl er die stärkere Vibrionenvernichtung durch Leukozyten und Serum als durch dieses allein selbst hervorhebt, den miteingeführten Zellen jeden Anteil an der Keimbildung ab und teilt ihnen nur eine, allerdings wichtige Rolle bei der Beseitigung der Giftstoffe zu, ähnlich wie bei späteren Versuchen[2]) mit echten Choleravibrionen. Man

1) Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Bd. 42, Nr. 1.

2) Zentralbl. f. Bakteriol. 1. Bd. 50, S. 636.

wird bei Durchsicht seiner Protokolle diese offenbar ganz durch die Unwirksamkeit der isolierten Leukozyten in vitro veranlaſste Schluſsfolgerung des ausgezeichneten Forschers kaum teilen können, wenn man sieht, wie z. B. 1,2 g Kaninchenleukozyten gegen die Infektion mit 3—4 Ösen, also etwa die 30—40 fache Dosis der Vibrionen allein zu schützen vermögen, während bakteriolytisches Immunserum die Vermehrung von 3 Ösen nicht aufzuhalten vermag. Bei der später hervorzuhebenden starken Bindungskraft des Metschnikoffschen Vibrio muſs eine solche Menge Bakteriensubstanz groſse Mengen von Immunkörper und Komplement unwirksam machen, so groſse, daſs selbst die Annahme mit der Pettersson die stärkere Keimvernichtung der Vibrionen bei Einführung von Leukozyten erklärt, nämlich ein reichlicher Komplementzufluſs, nicht ausreichen kann. Pettersson hat also in seinen Tierversuchen tatsächlich gezeigt, daſs Leukozyten vibriozid wirken können, auch wenn bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung in vitro ein Effekt nicht zu konstatieren ist. Auch bei Cholera ist die scheinbare Unwirksamkeit der Leukozyten des Meerschweinchens, die schon durch Schattenfroh[1]) und Moxter festgestellt wurde, durch Petterssons Versuche im Tierkörper widerlegt worden und Weil[2]) konnte, indem er die Säftewirkung im Tierkörper durch komplementbindende Mittel ausschaltete, zeigen, daſs einzig nur die Anwesenheit von Leukozyten in der Bauchhöhle die Infektion mit Cholera verhindere. Später stellte er dann in Gemeinschaft mit Toyosumi[3]) fest, daſs durch eine geeignete Versuchsanordnung auch im Reagenzglase die Bakterizidie der Leukozyten gegen Cholera nachweisbar sei und Nunokawa[4]) konnte auf Grund dieser Studien die Leukozytenstoffe einer näheren Analyse unterziehen.

Das Verhalten unseres Vibrio aus Kulturen gegenüber den Meerschweinchenzellen und Serum gibt der folgende Versuch wieder.

---

1) Schattenfroh, Arch. f. Hyg. Bd. 31 u. 35. Moxter, Deutsche med. Wochenschr. 1899.

2) Zentralbl. f. Bakt. 1. Bd. 43 Nr. 2.

3) Arch. f. Hyg. Bd. 71 S. 263.

4) Arch. f. Hyg. Bd. 71 S. 277.

Tabelle I.

Leukozyten und Serum eines grofsen, normalen, ca. 16 Stunden vorher mit 20 ccm steriler Bouillon vorbehandelten Meerschweinchens. Die Leukozyten durch Waschen mit Kochsalzlösung von der Exsudatflüssigkeit befreit. Einsaat 39 800 Vibrionen aus Bouillonkultur.

	nach 4 Stunden
1. 0,5 ccm Serum aktiv	2
2. 0,5 › › › + Leukozyten	312
3. 0,5 › Serum $^1/_2$ Stunde 56°	unzählig
4. 0,5 › › $^1/_2$ › 56° + Leukozyten .	unzählig
5. 0,5 › Normalexsudatflüssigkeit	77 000
6. 0,5 › › + Leukozyten	170 000
7. 0,5 › NaCl-Lösung peptonhaltig	unzählig
8. 0,5 › › › + Leukozyten	unzählig

Es hat also den Anschein, als ob das Meerschweinchen einzig in seinem Serum über antibakterielle Schutzmittel verfügen würde. Die lebenden Leukozyten sind in jedem der verwendeten Medien unwirksam, auch die mit ihnen im Tiere in dauernder Berührung gewesene Ezsudatflüssigkeit entbehrt bakterizider Fähigkeiten.

Für die folgenden Versuche wurde die Einsaat nicht mehr mit Kulturbazillen, sondern mit Vibrionen aus dem infizierten Tiere gemacht. Dabei wurde stets auch der Einflufs untersucht, den die Exsudate intraperitoneal infizierte Tiere auf den Ablauf bakteriolytischer Vorgänge nehmen. Zu diesem Zwecke wurden die Exsudate dem gestorbenen, später dem verbluteten Tiere steril entnommen und sofort und gründlich zentrifugiert. Da man aber auf diese Weise zwar den gröfsten Teil, nur sehr schwer aber alle Vibrionen entfernen kann, so wurden die durch das Zentrifugieren gänzlich geklärten Flüssigkeiten $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt, wobei stets Sterilität eintrat.

Tabelle II.

Ein kleines Meerschweinchen wurde mit 2 ccm Bouillonkultur des Metschnikoffschen Vibrio intraperitoneal infiziert und starb in der Nacht, nach höchstens 9 Stunden. Es enthielt ca. 4 ccm eines dünnen, serösen, trüben Exsudates, mit massenhaften Vibrionen, fast ohne Zellen. Zur Kontrolle dieses klar zentrifugierten, dann $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmten Exsudates wurde das in gleicher Weise behandelte Exsudat eines mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelten, nach 16 Stunden verbluteten grofsen Meer-

schweinchens verwendet, das gleichzeitig auch das Normalserum und die Leukozyten lieferte. Die Menge der Leukozyten, die für die Einzelproben zur Verwendung kamen, war zwar nicht jedesmal genau die gleiche, dürfte aber ziemlich immer 0,05 g betragen haben. Einsaat von 14000 Peritonealvibrionen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	31
2.	0,5 › › › + Leukozyten	0
3.	0,45 › › › + 0,05 ccm infiz. Exsudat 56°. . . .	12 000
4.	0,45 › › › + 0,05 › › › 56° + Leukoz.	8
5.	0,45 › › › + 0,05 › Normalexsudat 56° . . .	352
6.	0,45 › › › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	0
7.	0,35 › › › + 0,15 › infiz. Exsudat 56°. . . .	20 000
8.	0,35 › › › + 0,15 › › › 56° + Leukoz.	103
9.	0,35 › › › + 0,15 › Normalexsudat 56° . . .	9 500
10.	0,35 › › › + 0,15 › › 56° + Leukoz.	16
11.	0,5 › Normalexsudatflüssigkeit aktiv	30 000
12.	0,5 › › › + Leukozyten . .	39 000
13.	0,45 › › › + 0,05 ccm infiz. Exsudat 56°	unzählig
14.	0,45 › Normalexsudatflüssigkeit aktiv + 0,05 ccm infiz. Exsudat 56° + Leukozyten	unzählig
15.	0,45 › Normalexsudatflüssigkeit aktiv + 0,05 ccm Normalexsudat 56°	12 000
16.	0,45 › Normalexsudatflüssigkeit aktiv + 0,05 ccm Normalexsudat 56° + Leukozyten	unzählig

Sämtliche Proben mit 0,35 ccm Exsudatflüssigkeit und 0,15 ccm Exsudat des inffzierten und normalen Tieres lieferten ungehemmte Vermehrung.

Tabelle III.

Exsudat eines mit 1 ccm Metschnikoffbouillon intraperitonal geimpften, nach ca. 9 Stunden gestorbenen Meerschweinchens. Dasselbe enthielt massenhaft Vibrionen, so gut wie keine Zellen und wurde zentrifugiert. Die obenstehende klare Flüssigkeit wurde 1/2 Stunde auf 56° erhitzt, der Vibrionensatz in 0,25 ccm. NaCl-Lösung 1 Stunde lang auf 65° erhitzt, dadurch abgetötet und damit 1 ccm aktiven Normalserums 1 Stunde bei 37° behandelt. Nach Entfernung der Bazillen durch Zentrifugieren wurde die klare Flüssigkeit 1/2 Stunde auf 56° erwärmt. Das Blut des infizierten Tieres enthielt in einer Öse 29 Vibrionen, das daraus gewonnene Serum war steril. Einsaat von 13000 Peritonealvibrionen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	105
2.	0,5 › › › + Leukozyten	2
3.	0,45 › › › + 0,05 ccm infiz. Exsudat 56° . . .	30 000
4.	0,45 › › › + 0,05 › › › 56° + Leukoz.	1 440
5.	0,45 › › › + 0,05 › Normalexsudat 56° . . .	1 664
6.	0,45 › › › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	1 224

		Nach 4 Stunden
7.	0,45 ccm Serum aktiv + 0,05 ccm beh. Serum 56°	unzählig
8.	0,45 » » » + 0,05 » » » 56° + Leukoz.	40 000
9.	0,35 » » » + 0,15 ccm infiz. Exsudat 56° . . .	57 000
10.	0,35 » » » + 0,15 » » » 56° + Leukoz.	11 300
11.	0,35 » » » + 0,15 » Normalexsudat 56° . . .	22 000
12.	0,35 » » » + 0,15 » » 56° + Leukoz.	1 832
13.	0,35 » » » + 0,15 » beh. Serum 56°	unzählig
14.	0,35 » » » + 0,15 » » » 56°	unzählig
15.	0,5 » Serum des infiz. Tieres aktiv	12 680
16.	0,5 » » » » » » + Leukozyten . . .	1 624

Sämtliche Proben, die ganz wie 1—14 mit normaler, aktiver Exsudatflüssigkeit hergestellt waren, lieferten ungehemmtes Wachstum.

Tabelle IV.

Exsudat eines mit 0,5 ccm Bouillonkultur von Vibrio Metschnikoff intraperitoneal infizierten, nach ca. 8 Stunden gestorbenen Meerschweinchens, das massenhaft Vibrionen, fast ohne Zellen enthielt. Es wurde in der üblichen Weise zentrifugiert und erhitzt, der fast ganz aus Vibrionen bestehende Bodensatz wurde in 6,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, zu 0,5, 2 und 4 ccm verteilt, neuerlich in viel NaCl-Lösung durch Zentrifugieren gewaschen. Die gewonnenen Sätze wurden in wenig NaCl-Lösung (0,1 bis 0,15 ccm) verteilt, darin 1 Stunde lang auf 60° erhitzt und damit hergestellt.

Exsudat a: Satz von 4 ccm infiz. Exs. + 4 ccm Normalexsudatflüssigkeit,
Serum a: » » 0,5 » » » + 1 » Meerschweinchenserum aktiv,
Serum b: » » 2 » » » + 1 » » »

Nach $^1/_2$stündigem Aufenthalte bei 37° wurden alle Proben klar zentrifugiert, die beiden Sera a und b in aktivem Zustande, das Exsudat a nach $^1/_2$stündiger Erwärmung auf 56° verwendet. Das Blut des infizierten Tieres wurde aus dem angeschnittenen Herzen gewonnen, das daraus abgeschiedene Serum war steril. Einsaat von 11 700 Peritonealvibrionen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	122
2.	0,5 » » » + Leukozyten	5
3.	0,45 » » » + 0,025 ccm infiz. Exsudat 56° . . .	35 000
4.	0,45 » » » + 0,025 » » » 56° + Leukoz.	36
5.	0,45 » » » + 0,025 » Exsudat a 56°	26 000
6.	0,45 » » » + 0,025 » » 56° + Leukoz.	31
7.	0,4 » » » + 0,1 ccm infiz. Exsudat	320 000
8.	0,4 » » » + 0,1 » » » + Leukozyten	19 500
9.	0,4 » » » + 0,1 » Exsudat a 56°	unzählig
10.	0,4 » » » + 0,1 » » 56° + Leukoz. .	16 400
11.	0,5 » » $^1/_2$ Stunde 56°	unzählig
12.	0,5 » » $^1/_2$ » 56° + Leukozyten	unzählig
13.	0,5 » Serum a	unzählig
14.	0,5 » » + Leukozyten	31 000

		Nach 4 Stunden
15.	0,5 ccm Serum b	unzählig
16.	0,5 » » + Leukozyten	400 000
17.	0,5 » Serum des infiz. Tieres	660 000
18.	0,5 » » » » » + Leukozyten	10 400

Die mitgeteilten Versuche lassen bereits die wesentlichen Ergebnisse der ganzen Serie erkennen. Überall tritt die sehr deutliche Aktivität des Serums in Erscheinung, welche durch Leukozytenzusatz nicht in wesentlichem Grade mehr verstärkt werden kann. Wird die Eigenbakterizidie des Serums durch Erhitzen auf 56° aufgehoben, so vermag der Zusatz von lebenden Leukozyten dieselbe nicht herzustellen; auch im indifferenten Medium tritt eine erhebliche Zellwirkung nicht hervor, was mit den Befunden Petterssons in gutem Einklange steht.

Gleichwohl wäre die Leugnung der antibakteriellen Zellwirkung ein Irrtum; sie tritt in deutlichsten Weise eben erst dann hervor, wenn die Eigenbakterizidie des Serums durch die Bakterien selbst aufgehoben wird, während so grobe und unberechenbare Eingriffe wie das Erhitzen unterbleiben. Wir haben somit im Verhalten des Vibrio Metschnikoff einen sehr deutlichen Fall kombinierter Zellsäftewirkung vor uns; die Zellen sind an sich ganz oder fast ganz unwirksam, das Serum kann seiner Aktivität gänzlich beraubt werden und trotzdem tritt die Keimtötung bei der Mischung dieser beiden, für sich unwirksamen Faktoren in klarster Weise hervor. Im Prinzip sind das ganz ähnliche Verhältnisse, wie Weil sie bei seinen Untersuchungen mit dem Heubazillus aufgedeckt hat, wo das Serum wie die Leukozyten des Meerschweinchens an sich ganz oder doch nur wenig wirksam sind, während ihre Kombination die stärksten keimtötenden Effekte hervorruft. Der Unterschied liegt nur in der für den Metschnikoffschen Vibrio normalerweise vorhandenen Serumbakterizidie, die aber ohne die Kombinationswirkung mit den Zellen zu stören, in geeigneter Weise, nur nicht durch Erhitzung, beseitigt werden kann. Auf die Bedeutung solcher Befunde für den Infektionsverlauf wird noch weiter unten einzugehen sein.

Von grofsem Interesse und noch nicht erklärt ist das Verhalten der durch Injektion steriler Bouillon erhaltenen Ezsudate. Die daraus durch Zentrifugieren abgeschiedene, zellfreie Flüssigkeit verhält sich vom Serum ganz verschieden; sie zeigt nicht nur selbst keine Bakterizidie, sondern vermag auch mit den Leukozyten zusammen nicht zu wirken; ja im erhitzten Zustande verursacht ihre Beimengung zu aktivem Serum eine ganz unverkennbare Abschwächung von dessen keimtötender Kraft. Da nun Tiere mit solchen Exsudaten gegen die intraperitoneale Infektion mit dem Metschnikoffschen Vibrio in hohem Grade resistent sind, so ist es sehr schwer, diese Resistenz mit dem vermehrten Gehalt der Bauchhöhle an aktiven Körpersäften und Komplement erklären zu wollen und die gleiche Schwierigkeit besteht natürlich auch für die Wirkung der Zellen. Es liegt hier vorläufig noch ein der Aufklärung bedürftiger Fall von Nichtübereinstimmung der Resultate des Tier- und Reagenzglasversuches vor.

Deutlich ist auch, dafs die Exsudate infizierter Tiere imstande sind, die Eigenbakterizidie des Meerschweinchenserums aufzuheben oder mindestens abzuschwächen, ein Vermögen, welches auch künstlich hergestellten Extrakten von Vibrionen zukommt und daher auf den Gehalt an gelösten Leibessubstanzen von Vibrionen zurückgeführt werden mufs. Die auf diese Weise verloren gegangene Bakterizidie wird aber durch Zusatz von Zellen sofort wieder hergestellt, so dafs man eine gegen die Zelltätigkeit gerichtete Wirkung der Exsudate infizierter Tiere in Abrede stellen kann.

Die weiter angestellten Versuche, bei denen die Infektiosität der Vibrionen durch die fortgesetzten Tierpassagen stetig anstieg, hatten im wesentlichen die gleichen Ergebnisse, die aber nach verschiedenen Richtungen hin erweitert werden konnten.

Tabelle V.

Exsudat eines nach der intraperitonealen Infektion mit 1 Öse Kultur in der Nacht gestorbenen Meerschweinchens. Dasselbe enthielt zahllose Vibrionen, die sich durch ihre gröfsere Dicke sehr deutlich von Kulturvibrionen unterschieden. Fast ebenso zahlreich waren sie in dem Pleura-

exsudate des Tieres, und auch im Blute ließen sich die besonders auffallend dicken Vibrionen ohne Mühe schon mikroskopisch nachweisen. Peritoneal und Pleuraexsudat wurde gesondert gesammelt, sorgfältig zentrifugiert und nach ½ stündiger Erhitzung auf 56° (steril) verwendet. Die aus dem Peritonealexsudate abzentrifugierten Vibrionen wurden in Kochsalzlösung gewaschen, in 1 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde auf 60° erhitzt, wieder abzentrifugiert und der erhaltene Extrakt in folgender Weise mit aktivem Serum gemischt:

Serum a: 1,5 ccm Serum + 0,015 ccm Extrakt,
Serum b: 1,5 » » + 0,03 » »
Serum c: 1,5 » » + 0,15 » »

Einsaat von 14400 Peritonealbazillen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv + 0,05 ccm Normalexsudat 56° . . .	1168
2.	0,5 » » » + 0,05 » » 56° + Leukoz.	0
3.	0,5 » » » + 0,01 » infiz. Peritonealexsudat 56°	12400
4.	0,5 » » » + 0,01 » » » 56° + Leukozyten	0
5.	0,5 » » » + 0,05 » » » 56°	262000
6.	0,5 » » » + 0,05 » » » 56° + Leukozyten	204
7.	0,5 » » » + 0,01 » Pleuraexsudat 56° . . .	3800
8.	0,5 » » » + 0,01 » » 56° + Leukozyten	5
9.	0,5 » » » + 0,05 » » 56° . . .	10800
10.	0,5 » » » + 0,05 » » 56° + Leukozyten	19
11.	0,5 » » »	7400
12.	0,5 » » » + Leukozyten	193
13.	0,5 » » » + » 3 mal gefroren . . .	2568
14.	0,5 » Serum a	270000
15.	0,5 » » + Leukozyten	128
16.	0,5 » » + » 3 mal gefroren	2344
17.	0,5 » Serum b	1800000
18.	0,5 » » + Leukozyten	206
19.	0,5 » » + » 3 mal gefroren	2496
20.	0,5 » Serum c	unzählig
21.	0,5 » » + Leukozyten	2880
22.	0,5 » » + » 3 mal gefroren	11300

Zu diesem Versuche ist noch zu bemerken, daſs das Serum, welches für die Proben 1—10 verwendet wurde, von dem gleichen Tiere stammte, das die Leukozyten geliefert wurde, während zu den Proben 11—22 das Serum eines anderen Tieres verwendet worden war. Man ersieht sofort die auſserordentlich starke Wirkung der Zellen in Seren, denen durch Zusatz von Vibrionenextrakt jede Spur von bakterizider Kraft genommen ist, und

bemerkt weiter, daſs dazu nicht unbedingt die Anwesenheit lebender, also der Phagozytose fähiger Leukozyten notwendig ist, sondern daſs auch tote Zellen noch sehr stark, wenn auch schwächer als lebende zu wirken vermögen. Ganz ähnlich wie der Zusatz eines aus Tiervibrionen gewonnenen Extraktes wirkt Zusatz des von Vibrionen befreiten Exsudates infizierter Tiere, vermag aber ebensowenig gegen die Leukozytenkraft auszurichten.

Tabelle VI.

Exsudat eines mit 1/2 Öse Agarkultur intraperitoneal infizierten Tieres, das nach höchstens 8 Stunden gestorben war. Hier, wie im Pleuraexsudate und im Blute sind Vibrionen in ihrer dicken tierischen Form sehr zahlreich. Das Peritonealexsudat wird sorgfältig zentrifugiert und im aktiven Zustande verwendet; es enthält aber noch immer 116000 Vibrionen in 0,1 ccm. Ein Teil des Exsudates wird in Portionen von 0,05, 0,1, 0,25 und 0,5 ccm zentrifugiert, die dadurch erhaltenen Vibrionensätze werden gewaschen und die dann verbleibenden Bazillensätze in der anhaftenden geringen Menge Kochsalzlösung 1 Stunde auf 60° erhitzt. Aus dem abzentrifugierten und gewaschenen Satze von 3 ccm Exsudat wird durch einstündiges Erwärmen bei 60° ein danach durch scharfes Zentrifugieren gewonnener Extrakt hergestellt. Einsaat 36400 Vibrionen aus dem Pleuraexsudate des infizierten Tieres. Mit diesen Vorbereitungen wurden hergestellt:

Serum I = 1 ccm Serum aktiv + Satz von 0,05 ccm Exsudat,
Serum II = 1 › › › + › › 0,1 › ›
Serum III = 1 › › › + › › 0,25 › ›
Serum IV = 1 › › › + › › 0,5 › ›

Nach einstündiger Einwirkung bei 37° wurden die Vibrionensätze wieder abzentrifugiert und die Seren verwendet. — Überdies wurden hergestellt:

Serum a = 0,9 ccm Serum aktiv + 0,001 ccm Extrakt (in 0,1 ccm NaCl-Lösung)
› b = 0,9 › › › + 0,002 › › › 0,1 › ›
› c = 0,9 › › › + 0,005 › › › 0,1 › ›
› d = 0,9 › › › + 0,01 › › › 0,1 › ›
› e = 0,9 › › › + 0,02 › › › 0,1 › ›
› f = 0,9 › › › + 0,1 › › › 0,1 › ›

	Nach 4 Stunden
1. 0,5 ccm Serum aktiv	10100
2. 0,5 › › › + Leukozyten	7
3. 0,5 › Serum I	86000
4. 0,5 › › + Leukozyten	4
5. 0,5 › Serum II	77000
6. 0,5 › › + Leukozyten	35
7. 0,5 › Serum III	94000
8. 0,5 › › + Leukozyten	35

		Nach 4 Stunden
9.	0,5 ccm Serum IV	950 000
10.	0,5 » » + Leukozyten	5 600
11.	0,5 » Serum a	9 300
12.	0,5 » » + Leukozyten	0
13.	0,5 » Serum b	7 500
14.	0,5 » » + Leukozyten	0
15.	0,5 » Serum c	35 000
16.	0,5 » » + Leukozyten	1
17.	0,5 » Serum d	20 200
18.	0,5 » » + Leukozyten	8
19.	0,5 » Serum e	37 800
20.	0,5 » » + Leukozyten	18
21.	0,5 » Serum f	160 000
22.	0,5 » » + Leukozyten	2 800
23.	0,49 » Serum aktiv + 0,01 ccm Exsudat d. infiz. Tieres aktiv	1 376 000
24.	Ebenso + Leukozyten	2 000
25.	0,45 ccm Serum aktiv + 0,05 ccm Exsudat d. infiz. Tieres aktiv	1 920 000
26.	Ebenso + Leukozyten	6 800

Der vorstehende Versuch brachte in mehrfacher Richtung Aufschlüsse, zunächst darüber, wie stark die Fähigkeit des benutzten Vibrionenstammes nach seinen Tierpassagen zur Bindung der bakteriolytischen Säftewirkungen geworden ist. Schon die geringe Menge von Bakteriensubstanz, die in 0,05 ccm des im Tiere abgeschiedenen Exsudates enthalten ist oder der Extrakt aus solchen Vibrionen in der Menge von 0,002—0,005 ccm reicht dazu aus. Leukozyten vermögen die durch die Bindung entstandenen Defekte der antibakteriellen Kraft in tadelloser Weise zu ersetzen, aber auch sie sind nicht unbeschränkt wirksam. Denn überschreitet der Zusatz von Bakteriensubstanz als Extrakt ein gewisses Maſs, so läſst die ergänzende Wirkung der Zellen, wenn sie auch noch immer deutlich merkbar ist, zu wünschen übrig und das gleiche ist der Fall, wenn man ein aktives Serum mit zu groſsen Mengen von toten Vibrionen behandelt. Das steht in bestem Einklange mit den Ermittlungen Weils, daſs nach Behandlung eines Serums mit groſsen Mengen toter Bazillen die Leukozytenbakterizidie geschädigt wird. Dabei ist freilich sehr schwer zu entscheiden, ob hier eine direkte Einwirkung des gebildeten Extraktes auf die Zellen vorliegt, oder ob durch die Bakterienbehandlung des Serums aus diesem ein

zur kombinierten Wirkung mit den Zellen notwendiger Serumanteil entfernt wird.

Das Exsudat der an schwerer Vibrioneninfektion gestorbenen Tiere verhält sich ungefähr wie ein aus Vibrionen selbst hergestellter Extrakt: es hebt die Serumbakteriolyse auf, die sich aber durch Zusatz von Leukozyten mehr weniger vollständig wiederherstellen läſst, so daſs eine direkte Einwirkung auf diese, die bei Untersuchung von Milzbrandexsudaten so auffallend ist, entweder gar nicht oder nur in allergeringstem Maſse stattfindet. Wie im zweiten Teile dieser Arbeit zu beweisen sein wird, ist das durch andere Vibrionen (echte Cholera) im infizierten Tiere gebildete Exsudat weit weniger reich an gelöster Bakteriensubstanz so daſs es nur eine sehr geringe Wirkung auf die Serumbakteriolyse auszuüben vermag, wobei ebenfalls das Fehlen jeder Beeinfluſsung der Zellbakterizidie deutlich hervortritt.

In methodischer Hinsicht lehrt der Versuch weiter, daſs bei der gewöhnlichen Art der Verwendung der Exsudate infizierter Tiere zu bakteriziden Versuchen notwendig Vibrionenextrakte entstehen müssen. Denn hier waren trotz sorgfältigstem Zentrifugieren des Exsudates noch sehr viele lebende Keime in demselben zurückgeblieben und es ist selbstverständlich, daſs diese während der meist notwendigen Erhitzung des Exsudates auf 56° zum Zwecke der Sterilisierung ihre Leibessubstanz abgeben müssen; der Umstand, daſs die in Tabelle VI verwendeten Exsudate, obwohl sie nicht erhitzt und deshalb noch stark vibrionenhaltig waren, dennoch die Zellwirkung nicht zu unterdrücken vermochten, weist deutlich darauf hin, daſs der Metschnikoffsche Vibrio nicht die Fähigkeit hat, sich durch Ausbildung paralysierender Stoffe der Einwirkung der Leukozyten des Meerschweinchens zu entziehen, so wie dies der Milzbrandbazillus zu tun imstande ist. Schlieſslich sei noch auf den Umstand hingewiesen, wie schwach die Serumbakterizidie gegenüber den aus dem infizierten Tierkörper selbst zur Einsaat benutzten Vibrionen geworden ist, was schon in der vorangehenden Tabelle zu erkennen ist. In späteren Versuchen wurde, um das Exsudat infizierter Tiere zu gewinnen, nicht mehr der Tod derselben

abgewartet, sondern dieselben wurden wenige Stunden nach der Infektion verblutet. Bestimmend dafür war die alte Erfahrung, daſs bei so ziemlich allen Halbparasiten das Schicksal der Infektion sich, wenn nicht von vornherein allzu massive Dosen verwendet werden, etwa zwei Stunden nach der Infektion entscheidet; in dieser Zeit müssen also die etwa vorhandenen Besonderheiten, welche für das Zustandekommen der Infektion wichtig sind, schon ausgebildet sein.

Tabelle VII.

Ein Meerschweinchen wird $^3/_4$ Stunden nach der intraperitonealen Infektion mit $^3/_4$ Öse Metschnikoffkultur verblutet. In 0,1 ccm Blut waren 3568 Vibrionen. Im Peritoneum fanden sich ca. 2 ccm trüber, leicht gerinnender Flüssigkeit, fast ohne Zellen, aber mit zahlreichen Vibrionen, die teils die Dicke der typischen tierischen Generation angenommen hatten, teils noch die dünnen Kulturformen zeigten. Teilweise sahen diese wie in der Auflösung begriffen, sehr dünn aus, doch fand sich nirgends Granulabildung. Am Netze wesentlich der gleiche Befund, neben Phagozytose. Auch in der Pleurafeuchtigkeit waren bereits Vibrionen nachweisbar. Ein anderes Meerschweinchen wird $1^1/_2$ Stunde nach der gleichen Infektion mit einem Vibrionengehalt von 7376 in 0,1 ccm Blut verblutet. Es enthielt 2 ccm Peritonealexsudat ohne Zellen mit zahllosen, typisch tierischen Vibrionen, oft mit Neigung zur Bildung von Spirillen, die aber offenbar rasch in Vibrionen zerfallen. Der Befund am Netze wich von dem des vorigen Tieres sehr ab, da sich sehr viele Leukozyten mit intensiver Granulaphagozytose fanden, während im freien Exsudate Granula gänzlich fehlten und Zellen aus dem Netz nicht in die Bauchhöhle übergegangen waren. Auch in der Pleura fanden sich Vibrionen.

Ein drittes Meerschweinchen wurde $2^1/_4$ Stunden nach der gleichen Infektion mit 9408 Vibrionen in 1 ccm Blut verblutet. Die im Peritoneum vorgefundenen 2 ccm Exsudat enthielten massenhaft typisch tierische, dicke und dabei relativ kurze Vibrionen. Der Befund am Netze entsprach dem des vorigen Tieres, nur fanden sich zwischen den mit Granula beladenen Leukozyten zahlreiche freie Vibrionen vor. In der Pleura war deutliche Vibrionenvermehrung eingetreten.

Die Sera und Exsudate der 3 Tiere wurden sorgfältig zentrifugiert und teils als solche (aktiv), teils nach $^1/_2$stündiger Erhitzung auf 56° verwendet. Sie waren dadurch steril geworden, während sie sonst bei allen 3 Tieren in 0,1 ccm weit über 1 Million Vibrionen enthielten. Je 0,5 ccm Serum der 3 Tiere enthielt 4016, 648 und 11 072 Vibrionen. Zur Einsaat gelangten 7520 Vibrionen aus dem Exsudate des 3. Tieres.

	Nach 4 Stunden
1. 0,5 ccm Serum 1 aktiv	14 200
2. 0,5 » » » + Leukozyten	128

			Nach 4 Stunden
3.	0,5 ccm	Exsudat 1 aktiv	unzählig
4.	0,5 ›	› › + Leukozyten	unzählig[1])
5.	0,5 ›	Serum 2 aktiv	6 400
6.	0,5 ›	› › + Leukozyten	168
7.	0,5 ›	Exsudat 2 aktiv	unzählig
8.	0,5 ›	› › + Leukozyten	unzählig[1])
9.	0,5 ›	Serum 3 aktiv	800 000
10.	0,5 ›	› › + Leukozyten	3 264
11.	0,5 ›	Exsudat 3 aktiv	unzählig
12.	0,5 ›	› › + Leukozyten	unzählig[1])
13.	0,5 ›	Normalserum aktiv	46
14.	0,5 ›	› › + Leukozyten	62
15.	0,5 ›	› › + 0,025 ccm Serum 1 56° . . .	656
16.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	0
17.	0,5 ›	› › + 0,025 › Exsudat 1 56° . .	2 918
18.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	0
19.	0,5 ›	› › + 0,024 › Serum 2 56° . .	728
20.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	5
21.	0,5 ›	› › + 0,025 › Exsudat 2 56° . .	3 168
22.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	3
23.	0,5 ›	› › + 0,025 › Serum 3 56° . .	139
24.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	0
25.	0,5 ›	› › + 0,025 › Exsudat 3 56° . .	1 472
26.	0,5 ›	› › + 0,025 › › 56°+Leukoz.	0

Sowohl was den Tier- als den Reagenzglasversuch betrifft, gibt die vorstehende Tabelle wichtige Aufschlüsse. Sie zeigt, daſs innerhalb der freien Bauchhöhle irgendeine Verteidigung gegen die injizierten Vibrionen gar nicht stattzufinden scheint; diese werden in kurzer Zeit »tierisch«, d. h. sie nehmen jene unverkennbare Formveränderung an, die sie von ihrem Kulturzustande bestimmt unterscheidet und mit dem auch eine erhebliche Widerstandskraft gegen die Säftebakterizidie verbunden zu sein pflegt. Die ganzen Abwehrerscheinungen spielen sich am Netze und wahrscheinlich ähnlich auch sonst am Parietalperitoneum ab, sind nach $^3/_4$ Stunden erst wenig, dann sehr deutlich bemerkbar und bestehen in einer sehr starken Tätigkeit der Leukozyten, die zu intensiver Phagozytose und Granulabildung führen kann. Gleichwohl erscheinen keine Zellen in der Bauch-

1) Dabei aber ist die Zahl der Kolonien deutlich geringer als in den Proben ohne Zellen.

höhle, obwohl sie, wie der zweite Teil des Reagenzglasversuches zeigt, trotz Anwesenheit geringer Mengen des gebildeten Exsudates noch gut zu wirken vermöchten. Ganz offenbar werden sie direkt am Netze zurückgehalten, und diesem Umstande ist in der Folge wohl die Ursache der ganz unbeschränkten Vermehrung in der Peritonealflüssigkeit, welche an sich nicht die Eigenschaft annimmt, die Leukozytenwirkung zu hemmen, wie dies für Milzbrand so deutlich nachgewiesen werden konnte. Den Vorgängen am Netze aber wird man wohl mit Recht eine sehr erhebliche Bedeutung für die Erklärung der Tatsache beilegen dürfen, dafs die Halbparasiteninfektionen sich in der Regel nicht generalisieren. An dieser Haupteinbruchsstelle aus der Bauchhöhle in den übrigen Organismus wird die Zelltätigkeit nicht vollständig durch Zellabhaltung verhindert, und ihre Folgen treten im Zerfall und in der Phagozytose der Vibrionen allsogleich hervor. Es unterliegt keinem Zweifel, dafs die Zellaktion sich auch in der freien Bauchhöhle bemerklich machen müfste, wenn nur Leukozyten hinein könnten, wie dies bei leichten Infektionen der Fall ist. Der Vibrio Metschnikoff hatte allerdings infolge der Tierpassagen in diesem Versuchsstadium bereits einen Charakter angenommen, der an den von septikämischen Bakterien erinnerte; namentlich der frühe Einbruch und der von da an stetige Aufenthalt der Vibrionen im Blute bot dafür Anhaltspunkte, obwohl es zu einer wirklich schrankenlosen Vermehrung nicht kam. Dafs sich das Serum der infizierten Tiere im allgemeinen so verhält, wie ein Serum, das mit einer geringen Menge von Vibrionen in vitro behandelt wurde, geht aus fast allen Versuchen hervor: es war an sich nicht mehr bakterizid, wirkte aber mit Leukozyten zusammen sehr gut antibakteriell. In den späteren Tierpassagen, welche zu einer Infektiosität des Vibrio unter $^1/_{10}$ Öse führten, wurde allerdings die Widerstandskraft der tierischen Vibrionen gegen Serum so grofs, dafs auch das Normalserum alter Tiere kaum noch Spuren bakterizider Wirkung erkennen liefs, während Kulturvibrionen in Übereinstimmung mit dem von Pettersson verwendeten, gleich infektiösen Stamme immer beeinflufst wurden. Weitere Ergebnisse waren

aber durch die Weiterführung der Tierpassagen nicht zu erlangen; niemals waren die in der Bauchhöhle, auch bei schwerster Infektion gebildeten Exsudate imstande, die Wirkung künstlich zugesetzter Leukozyten zu paralysieren, und dementsprechend konnte auch stets am Netze der infizierten Tiere das Einsetzen des zellulären Verteidigungsmechanismus gefunden werden.

Tabelle VIII.

Exsudat eines Meerschweinchens, das nach intraperitonealer Infektion mit 1 Öse (Infektiosität unter $^1/_{10}$ Öse) nach 2 Stunden verblutet wurde. Im Exsudate Massen von tierischen Vibrionen, am Netze starke Granulaphagozytose neben freien Vibrionen. In 0,1 ccm Blut 6500 Vibrionen, in 0,5 ccm des daraus abgeschiedenen Serums noch 1300. Das Exsudat wird zentrifugiert und $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt, das Serum wird aktiv verwendet. Überdies werden 4 ccm Serum eines grofsen Normaltieres, das auch die Leukozyten für den Versuch lieferte, mit 3 Tropfen einer sehr dichten Aufschwemmung lebender Kulturvibrionen versetzt, $^3/_4$ Stunden bei 37° gehalten und dann abzentrifugiert, was sehr gut gelingt. Der Zweck dieses Versuches bestand darin, die Verhältnisse nachzuahmen, wie sie in den Säften eines infizierten Tieres infolge der Resorption von Bazillensubstanz eintreten können, und es sollte festgestellt werden, ob in einer solchen Körperflüssigkeit Leukozyten auch dann noch wirken können, wenn man Exsudat infizierter Tiere zusetzt. Einsaat 9000 Peritonealvibrionen.

			Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm	Serum d. infiz. Tieres aktiv	5 000
2.	0,5 ›	› › › › › + Leukozyten	272
3.	0,5 ›	› › › › › + 0,05 ccm Exsudat 56°	35 000
4.	0,5 ›	› › › › › + 0,05 › › 56° + Leukozyten	640
5.	0,5 ›	Normalserum aktiv	14 800
6.	0,5 ›	› › + Leukozyten	96
7.	0,5 ›	behandeltes Serum aktiv	600 000
8.	0,5 ›	› › › + Leukozyten	416
9.	0,45 ›	Normalserum aktiv + 0,05 ccm Exsudat 56°	67 000
10.	0,45 ›	› › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	256
11.	0,45 ›	beh. Serum + 0,05 ccm Exsudat 56°	1 120 000
12.	0,45 ›	› › + 0,05 › › 56° + Leukozyten	0
13.	0,35 ›	Normalserum aktiv + 0,15 ccm Exsudat 56°	610 000
14.	0,35 ›	› › + 0,15 › › 56° + Leukoz.	336
15.	0,35 ›	beh. Serum + 0,15 ccm Exsudat 56°	2 100 000
16.	0,35 ›	› › + 0,15 › › 56° + Leukozyten	606

II.

Die Versuche mit dem Metschnikoffschen Vibrio hatten das wichtige Ergebnis, daſs der Meerschweinchenorganismus sowohl in seinen Säften als in seinen Zellen über sehr wirksame Verteidigungsmittel verfügt, von denen die antibakterielle Wirkung der Säfte isoliert in Erscheinung treten und von sehr ansehnlicher Stärke sein kann. Aber sie ist insofern sehr problematischer Natur, als der Vibrio durch seine bloſse Substanz sie leicht paralysieren kann, wie dies die Versuche mit sehr geringen Mengen von Bazillenextrakten ergeben haben, welche die Bakterizidie des Meerschweinchenserums vollständig aufheben. Daſs bei der intraperitonealen Infektion ganz Ähnliches, und zwar schon in den allerersten Stunden der Infekton eintritt, beweisen die Versuche, welche die prinzipielle Analogie im Verhalten von Extrakten und den im Tiere selbst gebildeten Exsudaten ergeben haben. Daraus folgt sofort, daſs die in der Peritonealhöhle des normalen Tieres angesammelten Säftewirkungen sehr leicht ausgeschaltet werden können, sobald nur Bakteriensubstanz genug eingeführt oder gebildet wird. Sind sie aber einmal unwirksam gemacht, so ist ihre Restitution auf natürliche Weise unmöglich, da durch die rapide Vermehrung, die sogleich einsetzt, fortgesetzt neue Bakteriensubstanz entsteht, welche, wie die Verfolgung einer schweren Infektion zeigt, offenbar mehr bakterizide Wirkungen zu binden imstande ist, als neu in der Bauchhöhle hinzutreten können.

Der Nachweis, daſs in solchen Fällen, d. h. bei schon durch die Bakterien zum Schwinden gebrachter Bakterizidie der Säfte noch die Zellen, und zwar in Verbindung mit diesen an sich unwirksam gewordenen Körperflüssigkeiten antibakteriell eingreifen können, ist nicht nur in methodologischer Hinsicht, sondern auch mit Bezug auf das Verständnis des tierischen Abwehrmechanismus von Bedeutung. In erster Beziehung lehrt dieser Befund sehr eindrücklich, wie vorsichtig man die Ergebnisse von Reagenzglasversuchen zu beurteilen hat. Alle

eigenen Versuche bestätigen ja die schon Schattenfroh bekannte und dann besonders von Pettersson studierte Tatsache, dafs die Leukozyten in der üblichen Weise untersucht, gegenüber Halbparasiten, wie dem Metschnikoffschen und Choleravibrio oder dem Typhusbazillus, so gut wie unwirksam sind. Weil und Toyosumi hatten das im Prinzip gleiche Ergebnis, wenn sie auch bei Cholera (vollständiger Mangel sonstiger, das Bakterienwachstum begünstigender Umstände) die Möglichkeit isolierter Zellwirkung nachwiesen. Untersucht man die Wirkung von Leukozyten in Körperflüssigkeiten, deren Aktivität durch Erwärmen ausgeschaltet ist, so kann man höchstens bei sehr empfindlichen Stämmen des Choleravibrio einen gewissen Effekt erzielen; in der Regel ergibt sich vollständiger Mangel jeder Bakterizidie. Eine Untersuchung der Zellen in aktiven Körperflüssigkeiten war aber bisher wegen der starken Eigenbakterizidie dieser unmöglich, und erst Versuche, wie die oben angeführten, beweisen, dafs den Leukozyten des Meerschweinchens sehr starke antibakterielle Wirkungen zukommen, zu deren Entfaltung aber die Anwesenheit nicht erhitzter Säfte erforderlich ist. Die Eigenbakterizidie derselben kann durch die Bakteriensubstanz ausgeschaltet sein, und dadurch gewinnen die Versuche auch ein erhebliches Interesse für das Studium des Abwehrmechanismus im Tierkörper, welcher auch nach Beseitigung der Säftebakterizidie noch nicht wehrlos ist, sondern in seinen Zellen eine zweite Verteidigungslinie hat. Tatsächlich kann man ihr Eingreifen bei jeder schweren, aber noch nicht tödlichen Infektion beobachten.

Es erschien im hohen Grade wünschenswert, diese Verhältnisse unter günstigeren Bedingungen zu studieren, als sie der Metschnikoffsche Vibrio darbot, der im Laufe der fortgesetzten Tierpassagen nicht nur immer ausgesprochener einen septikämischen Charakter annahm, sondern auch eine erhebliche Widerstandskraft gegen die Serumbakteriolyse erlangte, welche die Beurteilung der Ergebnisse sehr erschwerte. Der im Institute viel benutzte Cholerastamm Pfeiffer zeichnete sich durch eine aufserordentlich grofse Empfindlichkeit gegen bakteriolytische

Wirkungen aus; seine Infektiosität war dagegen zu Beginn der Versuche eine recht geringe, und es erschien nicht ohne Interesse, die Verhältnisse der Infektion bei zunehmender Infektionstüchtigkeit zu verfolgen.

Die Richtung der Versuche war durch die vorangehenden mit dem Metschnikoffschen Vibrio von selbst gegeben: es handelte sich darum, die antibakteriellen Schutzmittel des Meerschweinchenorganismus an sich und in ihren gegenseitigen Beziehungen festzustellen und zu sehen, ob im Verlauf der Infektion von Seite der Mikroorganismen Verhältnisse hervorgebracht werden, welche sich gegen diese Verteidigungskräfte richten.

Die Infektiosität des Cholerastammes zu Beginn der Versuche war sehr gering und 2 Ösen Agarkultur wirkten nur für ganz kleine Tiere gerade noch infizierend. Es gelang zwar relativ leicht, diese Dosis bis auf etwa $^3/_4$ Ösen herabzumindern, darüber hinauszukommen erwies sich aber als nicht oder nur mit unverhältnismäßsigen Tieropfern durchführbar.

Tabelle I.

Ein Meerschweinchen von 200 g erhielt intraperitoneal 2 Ösen der Ausgangskultur und wurde 2 Stunden danach verblutet. Es enthielt zirka 2 ccm helltrüben, zellarmen Exsudates, dessen spärliche Leukozyten starke Granulaphagozytose zeigten. Vibrionen waren sehr zahlreich, neben etwa $^1/_2$ Granula vorhanden. In Netzausstrichen fanden sich fast ausschließslich sowohl intra- als extrazelluläre Granula. Die Kultur lieferte aus 0,1 ccm Blut 1400, aus Exsudat unzählige Kolonien. Das Exsudat wurde klar zentrifugiert und vor der Verwendung $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt. Als Einsaat diente verdünntes Peritonealexsudat mit einem Keimgehalte von 33 300 Vibrionen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	0
2.	0,5 » » » + Leukozyten	0
3.	0,49 » » » + 0,025 ccm Exsudat	1 072
4.	0,49 » » » + 0,025 » » + Leukozyten .	0
5.	0,4 » » » + 0,1 » »	32
6.	0,4 » » » + 0,1 » » + Leukozyten .	27
7.	0,5 » » $^1/_2$ Stunde 56°	452 000
8.	0,5 » » $^1/_2$ » 56° + Leukozyten	75 000
9.	0,5 » » nach Komplementbindung	72 000
10.	0,5 » » » » + Leukozyten . .	0
11.	0,5 » NaCl-Lösung	130 000
12.	0,5 » » + Leukozyten	1
13.	0,5 » Serum des infiz. Meerschweinchens	160
14.	0,5 » » » » » + Leukozyten .	6

Die Komplementbindung erfolgte in der Weise, dafs 1 ccm aktiven Serums mit dem Präzipitate von 10 ccm Choleraextrakt und aktivem Rinderserum durch 1 Stunde bei 37° behandelt wurde.

Tabelle II.

Ein Meerschweinchen von 200 g erhielt 2 Ösen der aus dem vorigen Tiere gewonnenen Kultur intraperitoneal und wurde nach 2 Stunden verblutet. Es ergab 3 ccm trübes, so gut wie zellfreies Exsudat mit massenhaften Vibrionen und ca. $^1/_{10}$ Granula. In Netzausstrichen fand sich stärkste, sowohl Vibrionen als noch mehr Granula betreffende Phagozytose; daneben massenhaft freie Granula. Die Kultur lieferte in 0,1 ccm Blut 304 Kolonien. Das klar zentrifugierte Exsudat wurde nach $^1/_2$stündiger Erhitzung auf 56° verwendet. Zur Komplementbindung wurde 1 ccm Serum mit dem sorgfältig gewaschenen Satze von $^1/_2$ mit Immunserum sensibilisierter Cholerakultur behandelt. Zur Einsaat diente verdünntes Peritonealexsudat mit einem Gehalt von 252 000 Vibrionen. Zu bemerken ist, dafs die zu diesem Versuche verwendeten Leukozyten ziemlich stark blutig waren.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	19
2.	0,5 › › › + Leukozyten	11
3.	0,45 › › › + 0,05 ccm Exsudat	25
4.	0,45 › › › + 0,05 › › + Leukozyten	19
5.	0,35 › › › + 0,15 › ›	29
6.	0,35 › › › + 0,15 › › + Leukozyten	12
7.	0,5 › › $^1/_2$ Stunde 56°	468 000
8.	0,5 › › $^1/_2$ › 56° + Leukozyten	544 000
9.	0,5 › › nach Komplementbindung	58 000
10.	0,5 › › › › + Leukozyten	224
11.	0,5 › NaCl-Lösung	75 800
12.	0,5 › › + Leukozyten	55 000
13.	0,5 › Serum des infiz. Meerschweinchens	3
14.	0,5 › › › › › + Leukozyten	27

Tabelle III.

Ein Meerschweinchen von 200 g erhält $1^3/_4$ Ösen des durch 4 Tiere passierten Cholerastammes intraperitoneal und wird $2^1/_2$ Stunden später verblutet mit einem Keimgehalt von 63 Vibrionen in 0,1 ccm Blut. Es ergab ca. 3 ccm Exsudates, das keine Zellen, aber massenhaft Vibrionen mit eingestreuten Granula enthielt und nach sorgfältigem Zentrifugieren und Erhitzung auf 56° verwendet wurde.

Aufser aktivem und inaktivem Normalserum wurden auch hergestellt:

Serum A: 3 ccm Serum + $^1/_2$ bei 60° abgetöteter Agarkultur,
Serum B: 3 › › + 2 mit Immunserum sensibilisierten und sorgfältig gewaschenen Agarkulturen.

Die Bodensätze wurden nach 1stündigem Aufenthalte bei 37° abzentrifugiert. Zur Einsaat wurde verdünntes Peritonealexsudat mit einem Vibrionengehalte von 18 800 verwendet.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	8
2.	0,5 » » » + Leukozyten	0
3.	0,4 » » » + 0,1 ccm Exsudat	25
4.	0,4 » » » + 0,1 » » + Leukozyten .	0
5.	0,3 » » » + 0,2 » »	54
6.	0,3 » » » + 0,2 » » + Leukozyten .	2
7.	0,5 » Serum A	4 000
8.	0,5 » » + Leukozyten	3
9.	0,4 » » + 0,1 ccm Exsudat . . . , ...	10 500
10.	0,4 » » + 0,1 » » + Leukozyten . . .	2
11.	0,3 » » + 0,2 » »	30 500
12.	0,3 » » + 0,2 » » + Leukozyten . . .	11
13.	0,5 » Serum B	59 100
14.	0,5 » » + Leukozyten	157
15.	0,4 » » + 0,1 ccm Exsudat	98 500
16.	0,4 » » + 0,1 » » + Leukozyten . . .	1 930
17.	0,3 » » + 0,2 » »	51 400
18.	0,3 » » + 0,2 » » + Leukozyten . . .	3 584
19.	0,5 » Serum 1/2 Stunde	75 000
20.	0,5 » » 1/2 » + Leukozyten	5 500
21.	0,5 » NaCl-Lösung	38 000
22.	0,5 » » + Leukozyten	3 800

Aus den vorstehend mitgeteiten Versuchen geht zunächst die ungemein grofse Empfindlichkeit des Cholerastammes gegen bakterizide Wirkungen hervor, die sich nicht nur im Reagenzglasversuche, sondern auch im Tierkörper zu erkennen gibt, wo stets Granulabildung zu beobachten war, obwohl die gesetzten Infektionen schwere waren. Am lebhaftesten ist diese Granulabildung am Netze, wo sie auch in fortgeschrittenen Infektionsstadien nie fehlt, was mit den Versuchen am Metschnikoffschen Vibrio übereinstimmt. Die Granula sind grofsenteils intrazellular, es finden sich aber regelmäfsig auch viele aufserhalb von Zellen.

Bei der starken Serumbakteriolyse konnte sich die Wirkung der Leukozyten nicht bemerklich machen; war die Eigenbakterizidie des Serums durch Erhitzen auf 56° zerstört, so trat wohl in mehrfachen Versuchen eine gewisse Wirkung der Leukozyten

hervor, aber ohne höhere Grade zu erreichen, was mit den Angaben der Autoren (Schattenfroh, Pettersson, Weil) gut stimmt. In Kochsalzlösung trat gewöhnlich eine ganz merkbare Leukozytenbakterizidie auf, was ungezwungen durch die hohe Empfindlichkeit des Vibrio erklärt werden kann.

Von nicht geringem Interesse war die hier, wie auch den späteren Versuchen zu erwähnende Tatsache, dafs die Exsudate infizierter Tiere, auch dann wenn die Infektion mit relativ grofsen Bakterienmengen vorgenommen war, die Eigenbakterizidie des Serums kaum beeinflufsten, also schwerlich irgend nennenswerte Mengen von gelöster Vibrionensubstanz enthalten haben können.

Die Erhitzung eines Serums ist nicht die einzige Art, durch die man ein Serum seiner Bakterizidie berauben kann; die Behandlung desselben mit sogenannten komplementbindenden Systemen oder die mit einfach abgetöteten Bakterien ergibt den gleichen Effekt, ohne dafs es dabei den sonstigen unkontrollierbaren Einflüssen, welche eine erhöhte Temperatur mit sich bringen mag, ausgesetzt würde. In einem solchen Serum läfst sich aber die Wirkung der Leukozyten auf Vibrionen in der schönsten Weise feststellen, denn die durch die Vorbehandlung in Verlust gegangene Bakteriolyse wird in der deutlichsten Weise wiederhergestellt und erweist sich dann in der Mehrzahl der Fälle als stärker wie jene Keimvorrichtung, zu der die Leukozyten in indifferenter Flüssigkeit oder wie bei diesem Stamme in inaktiviertem Serum befähigt sind. Und gerade diese Eigentümlichkeit mufs für den von der intraperitonealen Infektion bedrohten Tierkörper von der allergröfsten Wichtigkeit sein. Die Serum- oder allgemeiner die Säftebakteriolyse stellt in den serösen Höhlen zweifellos einen sehr mächtigen Schutzapparat vor, von dessen energischer und vor allem überaus schneller Wirkung jede Beobachtung einer intraperitonealen Injektion mit stark unterinfektiösen Dosen von Vibrionen unmittelbar überzeugt, und welch gewaltige Effekte er hervorzubringen imstande ist, beweist jeder Pfeiffersche Versuch mit Immunserum. Aber dieser wichtigen Verteidigungsvorrichtung des Organismus haften zwei

Nachteile an; der eine davon hat mit dem Schicksale der Infektion eigentlich nicht direkt zu tun, sondern bezieht sich auf die durch die Endotoxinwirkung veranlaſste Infektionkrankheit, die nicht notwendig ausbleiben muſs, wenn auch die Infektion, d. h. die Bakterienvermehrung durch die Bakteriolyse der Säfte erfolgreich abgewehrt ist. Für das Entstehen der Infektion ist es aber von Bedeutung, daſs die Bakterien in ihrer bloſsen Substanz, sozusagen durch ihre bloſse Anwesenheit schon imstande sind, die Säfte zu schädigen oder durch die sog. Bindung von Immunkörper oder Komplement oder beider unwirksam zu machen. In diesem Stadium ist der Eintritt von Leukozyten in die mehr weniger ihres Säfteschutzes beraubte Bauchhöhle von der äuſsersten Wichtigkeit, indem sie den Mangel, den die Körpersäfte durch die Bakterien erleiden muſsten, wieder zu ersetzen imstande sind und dabei durch die Anwesenheit der etwa gelösten Bakteriensubstanz mindestens nicht so gehemmt werden wie die Säfte für sich allein. Denn es ist klar, daſs z. B. das Serum A des in der Tabelle III wiedergegebenen Versuches gleichzeitig einen Bakterienextrakt darstellt, der aber trotzdem die Leukozytenwirkung nicht aufhält. Wie aus den späteren Versuchen hervorgehen wird, ist allerdings die Unbeeinfluſsbarkeit der Leukozyten in Serum durch Bakteriensubstanz keineswegs eine absolute und Zusatz allzu reichlicher Mengen von Bakteriensubstanz zu einer Serum-Leukozytenmischung oder, was wohl auf dasselbe hinausläuft, Behandlung eines Serums mit allzugroſsen Bakterienmengen, macht dasselbe unfähig, mit Zellen zusammen noch eine keimfeindliche Wirkung auszuüben.

Daſs der Verteidigungsmechanismus der Leukozyten bei der intraperitonealen Meerschweincheninfektion tatsächlich zur Anwendung kommt, dafür gibt es sehr viele und klare Beweise. Den einfachsten bietet die fortlaufende Beobachtung einer knapp unterinfektiösen oder gerade infektiösen Cholerainjektion. Je nach der geringeren oder gröſseren Empfindlichkeit des benutzten Vibrios bemerkt man zunächst weniger oder mehr Bakteriolyse mit Granulabildung, die aber nicht zum Verschwinden der Vibrionen führt; gar nicht selten beachtet man Bakteriolyse

geringen Grades neben langsamer Vermehrung, die ihr offenbar die Wagschale hält, und es kommt ein Zeitpunkt, wo die Vibrionenmenge stationär bleibt. Es kann nicht zweifelhaft sein, dafs die Bakteriolyse der Säfte paralysiert ist. Treten jetzt Leukozyten in erheblicher Menge zu, dann hört die Vermehrung auf und die Zahl der Vibrionen nimmt ab, nicht so schnell, wie bei einer möglichen Säftebakterizidie, aber kontinuierlich, und das Tier überlebt schliefslich oder es geht mit steriler oder doch sehr keimarmer Bauchhöhle unter Bildung eitrigen Exsudates zugrunde. Ein weiterer Beweis für die Bedeutung der Leukozyten für die Infektionsabwehr bietet die Untersuchung der gesteigerten Resistenz, wo eine durch Vorbehandlung ermöglichte Leukozytenansammlung ganz erstaunliche Vibrionenmengen nicht zur Vermehrung kommen läfst. Die Methodik, die Pettersson anwendete und die darin besteht, dafs man die Versuchstiere nicht durch eine vorangehende Injektion steriler Bouillon selbst zur Ansammlung von Zellen bringt, sondern diese von einem anderen Tiere gewinnt und gleichzeitig mit Vibrionen einspritzt, bildet einen weiteren Fortschritt in dieser Richtung und Weil konnte die Bedeutung der Leukozyten für die Infektionsabwehr in der schlagensten Weise sicherstellen, indem er die Möglichkeit der Säftewirkung in der Meerschweinchenbauchhöhle durch komplementbindende Mittel beseitigte und trotzdem bei Anwesenheit oder Einspritzung von Leukozyten Infektionsschutz erzielte.

Angesichts dieser Versuchsresultate ist es unmöglich, die Bedeutung der Leukozyten als eines mächtigen Schutzmittels gegen Halbparasiteninfektion zu verkennen, es ist aber durch nichts gerechtfertigt, die zelluläre Schutzwirkung in einen Gegensatz zu der humoralen zu stellen. Die Untersuchung der von den Leukozyten ausgehenden antibakteriellen Effekte in einem indifferenten Medium, wie der Kochsalzlösung oder einem denaturierten, wie dem erhitzten Serum, mag für die Feststellung ihres Wirkungsmechanismus von grofser Wichtigkeit sein und darf deshalb nicht unterlassen werden, aber es ist klar, dafs aus solchen Versuchen nur mit der allergröfsten Vorsicht Schlüsse

auf den Tierkörper gezogen werden dürfen, wo immer die Leukozyten mit den Säften in die engste Beziehung treten müssen. Nun hat sich in den letzten Zeiten die Zahl der Beispiele, wo Leukozyten nur im Zusammenhange mit Serum bakterizide Wirkungen entfalten oder doch stärkere als im isolierten Zustande zeigten, sehr erheblich gemehrt. Die Versuche von Weil und seinen Mitarbeitern haben in zielbewufster Weise auf die Feststellung einer kombinierten Zell-Säftewirkung hingearbeitet, und die Schule Peterssons kommt in vielfältig variierten Versuchen im wesentlichen zu dem gleichen Ergebnisse.

Die Sachlage ist nicht die, dafs man sagen darf, der Organismus habe nur humorale oder zelluläre Verteidigungsmittel, sondern er besitzt stets beide gleichzeitig, und beide treten, wenn sie nicht durch die Infektionserreger daran verhindert werden, auch stets in Tätigkeit. Der Körper verfügt sozusagen über eine doppelte Verteidigungsphalanx. Die erste Linie der Kampfmittel wird durch die Körpersäfte gebildet, die überall, wenn auch nicht im gleichen Ausmafse, vorhanden sind und sich den eindringenden Bakterien entgegenstellen; ihre Wirkung ist eine schnelle, und dort, wo wie in den serösen Höhlen günstige Bedingungen vorliegen, auch eine starke, nicht selten so stark, dafs sie auch im normalen Tiere und noch viel mehr im immunisierten die Infektion in der denkbar erfolgreichsten Weise durch Vernichtung der Erreger abwehrt. Aber ganz abgesehen von der auch heute noch nicht beantworteten Frage, ob denn die Säfte auch überall im Körper so wie in den serösen Höhlen oder wie im strömenden Blute wirken können, und dies zugegeben, so gibt es doch eine Anzahl von Infektionserregern, gegen die der Organismus keinerlei Säftewirkungen hat und die sich doch nicht widerstandslos ausbreiten können und überdies sind die antibakteriellen Serumwirkungen sehr labiler Natur, können namentlich, wie bereits hervorgehoben wurde, durch die blofse Bakteriensubstanz zum Verschwinden gebracht werden, und zwar in ihren beiden Komponenten, dem Immunkörper, wie dem Komplemente. Diesen natürlich gegebenen oder durch die Bakterien selbst herbeigeführten

Defekt der ersten Verteidigungslinie vermögen nun die Leukozyten auszugleichen, sie leiden weit weniger durch die Bakteriensubstanz als die Säfte, und sie können in sehr grofser Menge erscheinen. Von ihrer Beteiligung an der Bakterienvernichtung erhält man erst einen Begriff, wenn man sieht, wie die toten und bereits extrahierten Zellen noch fortgesetzt bakterizid wirken können, wie dies Gruber und Futaki bei Leukozyten milzbrandiger Tiere und neuerdings Weil bei der Untersuchung des Verteidigungsmechanismus gegen saprophytische Keime finden konnte. Bisher sind nur ganz wenige Bakterien gefunden worden, gegen die sich kein antibakterieller Schutzapparat des Meerschweinchens als wirksam erwiesen hätte; dagegen sind die, welche sich gegen bekannte Infektionserreger bei systematischen Studium der Säfte und der Zellen finden lassen, derart bedeutende, dafs nicht das Ausbleiben einer gesetzten Infektion, sondern das Zustandekommen derselben das Erstaunliche ist. Es wird aber verständlich, wenn man sieht, wie infektiöse Bakterien die Fähigkeit zur Paralysierung der antibakteriellen Schutzmittel in sich tragen, wie die Säftewirkungen sehr leicht ausgeschaltet werden können und wie auch die Abwehr der Leukozyten möglich ist, entweder so wie bei Milzbrand, wo die Bazillen zwar an sich dauernd gegen die Zellen empfindlich bleiben, aber durch Absonderungen (Aggressine) ihre Wirkung auch im Reagenzglase verhindern, oder wie bei Cholera und wohl auch den übrigen, erst vom Peritoneum aus infektiösen Halbparasiten, wo ganz einfach der Zutritt von Leukozyten zum Infektionsorte verhindert wird. Nur dieser Umstand ermöglicht den Vibrionen die intraperitoneale Vermehrung, während sie wie die weiteren Versuche zeigten, gegen einmal angesammelte Zellen so gut wie machtlos sind. Das steht aber in bester Übereinstimmung mit der bereits hervorgehobenen Tatsache, dafs die Anwesenheit oder gleichzeitige Zufuhr von Leukozyten zum Infektionsorte einen zwar naturgemäfs nicht spezifischen, aber überaus wirksamen Schutz gegen die Infektion verleiht.

Für die weiteren Versuche war der Gang sozusagen von selbst vorgeschrieben. Neben der Bestätigung und der weiteren

Verfolgung der bereits ermittelten Verhältnisse mufste untersucht werden, ob im Verhalten des Choleravibrio bei der intraperitonealen Meerschweincheninfektion und deren Nachahmnng im Reagenzglase eine Änderung mit der durch Tierpassage gesteigerten Infektiosität sich ergäbe.

Tabelle IV.

Ein Meerschweinchen von 200 g erhält 1 Öse des durch 6 Tiere passierten Cholerastammes und wird $2^1/_4$ Stunden später verblutet. Es lieferte 4 ccm zellfreien Exsudates mit massenhaften Vibrionen und sehr spärlichen Granula. Dasselbe wird nach sorgfältigem Zentrifugieren $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt. 0,1 ccm Blut des Tieres enthielt 5472 Keime, das daraus abgeschiedene Serum war in der Menge von 0,5 ccm steril. Ein Teil des zentrifugierten Exsudates, das ohne Erhitzung verwendet wurde, enthielt in 0,2 ccm 25 600 lebende Vibrionen. Zur Einsaat wurden 23 400 Vibrionen aus dem Exsudate verwendet.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	0
2.	0,5 » » » + Leukozyten	0
3.	0,4 » » » + 0,1 ccm Exsudat 56°	0
4.	0,4 » » » + 0.1 » » 56° + Leukozyten	0
5.	0,25 » » » + 0,25 » » 56°	0
6.	0,25 » » » + 0,25 » » 56° + Leukozyten	0
7.	0,5 » Serum a	1 252 000
8.	0,5 » » + Leukozyten	82 000
9.	0,4 » » + 0,1 ccm Exsudat 56°	1 556 000
10.	0,4 » » + 0,1 » » 56° + Leukozyten	6 600
11.	0,25 » » + 0,25 » » 56°	665 000
12.	0,25 » » + 0,25 » » 56 + Leukozyten	45
13.	0,5 » Serum b	29 200
14.	0,5 » » + Leukozyten	0
15.	0,4 » » + 0,1 ccm Exsudat 56°	200 000
16.	0,4 » » + 0,1 » » 56° + Leukozyten	0
17.	0,25 » » + 0,25 » » 56°	458 000
18.	0,25 » » + 0,25 » » 56° + Leukozyten	880
19.	0,5 » Serum 56°	258 000
20.	0,5 » » 56° + Leukozyten	7 800
21.	0,5 » NaCl-Lösung	216 000
22.	0,5 » » + Leukozyten	14 300
23.	0,5 » Serum des infiz. Tieres	0
24.	0,5 » » » » » + Leukozyten	5
25.	0,5 » Exsudat des infiz. Tieres, aktiv	1 433 000
26.	0,5 » » » » » » + Leukozyten	16 600

Das Serum a war in der Menge von 2,5 ccm mit bei 60° abgetöteten, nicht sensibilisierten, das Serum b unter gleichen Verhältnissen mit sensibilisierten Vibrionen behandelt und danach durch Zentrifugieren davon wieder befreit worden.

Tabelle V.

Das zu diesem Versuche verwendete Exsudat stammt von einem Meerschweinchen, das mit $^4/_5$ Öse der aus dem Tiere des vorigen Versuches gezüchteten Kultur infiziert und nach $2^1/_2$ Stunden verblutet worden war. Es enthielt massenhaft Vibrionen, wenig Granula und fast keine Zellen. Sonst ist die Versuchsanordnung die gleiche, bei einer Einsaat von 18200 Peritonealbazillen. In 0,1 ccm Blut des infizierten Tieres waren 4 Vibrionen, das daraus abgeschiedene Serum war steril, das durch Zentrifugieren erhaltene Exsudat der Bauchhöhle enthielt in 0,5 ccm 68000 Vibrionen und war nach dem Erhitzen auf 56° steril.

			Nach 4 Stunden
1.	0,5	ccm Serum aktiv	0
2.	0,5	› › › + Leukozyten	0
3.	0,4	› › + 0,1 ccm Exsudat 56°	0
4.	0,4	› › + 0,1 › › 56° + Leukozyten	16
5.	0,2	› › + 0,3 › › 56°	60
6.	0,2	› › + 0,3 › › 56° + Leukozyten	20
7.	0,5	› Serum a	56600
8.	0,5	› › + Leukozyten	256
9.	0,4	› › + 0,1 ccm Exsudat	83300
10.	0,4	› › + 0,1 › › + Leukozyten	0
11.	0,2	› › + 0,3 › ›	63800
12.	0,2	› › + 0,3 › › + Leukozyten	0
13.	0,5	› Serum b	352000
14.	0,5	› › + Leukozyten	480
15.	0,4	› › + 0,1 ccm Exsudat	420000
16.	0,4	› › + 0,1 › › + Leukozyten	60
17.	0,2	› › + 0,3 › ›	794000
18.	0,2	› › + 0,3 › › + Leukozyten	2600
19.	0,5	› Serum $^1/_2$ Stunde 56°	572000
20.	0,5	› › $^1/_2$ › + Leukozyten	456000
21.	0.5	› NaCl-Lösung	88000
22.	0,5	› › + Leukozyten	400
23.	0,5	› Serum des infiz. Tieres	9
24.	0,5	› › › › › + Leukozyten	0
25.	0,5	› Exsudat des infiz. Tieres aktiv	unzählig
26.	0,5	› › › › › › + Leukozyten	43000

Die Sera a und b waren wie im vorigen Versuche hergestellt.

Tabelle VI.

Das Choleraexsudat stammt von einem Meerschweinchen, das $2^1/_4$ Stunden nach der schweren Infektion mit $1^1/_2$ Öse des durch 8 Tiere passierten Stammes verblutet worden war. Es enthielt keine Zellen, fast keine Granula und massenhaft Vibrionen. Auch am Netze waren nur wenig Granula zu finden. 0,1 ccm Blut des Tieres enthielt 272 Vibrionen. Im Versuche wurde parallel die Wirksamkeit des Serums und der von Leukozyten befreiten Exuldatflüssigkeit eines normalen, mit Bouillon vorbehandelten Meerschweinchens geprüft, bei einer Einsaat von 40000 Peritonealbazillen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	0
2.	0,5 » » » + Leukozyten	0
3.	0,4 » » + 0,1 ccm Exsudat 56°	0
4.	0,4 » » + 0,1 » » 56° + Leukozyten . .	2
5.	0,25 » » + 0,25 » » 56°	146
6.	0,25 » » + 0,25 » » 56° + Leukozyten . .	0
7.	05 » » 1/2 Stunde 56°	unzählig
8.	0,5 » » 1/2 » 56° + Leukozyten	unzählig
9.	0,5 ccm Normalexsudatflüssigkeit aktiv	70500
10.	0,5 » » » + Leukozyten . .	19500
11.	0,4 » » » + 0,1 Exsudat 56°	506000
12.	0,4 » » » + 0,1 » 56° + Leukozyten	95000
13.	0,25 » » » + 0,25 Exsudat 56°	1118000
14.	0,25 » » » + 0,25 » 56° + Leukozyten	352000
15.	0,5 » Normalexsudatflüssigkeit 1/2 Stunde 56°	412000
16.	0,5 » » 1/2 » 56° + Leukoz.	400000
17.	0,5 » NaCl-Lösung	90000
18.	0,5 » » » + Leukozyten	54000

Tabelle VII.

Das Choleraexsudat stammt von einem mit $^2/_3$ Öse (gerade tödliche Dosis infiziertem Meerschweinchen, das $2^1/_2$ Stunden später verblutet wurde. Es enthielt sehr wenige Zellen und massenhaft Vibrionen, neben zirka $^1/_{10}$ Granula. Am Netze waren in Menge intra- und extrazelluläre Granula vorhanden, das in geringer Menge vorgefundene Pleuraexsudat enthielt mikroskopisch Vibrionen, aus 0,1 ccm Blut gingen 240 Kolonien auf. Zur Verwendung kamen aufser Serum und Exsudatflüssigkeit eines normalen mit Bouillon vorbehandelten Meerschweinchens die gleichen Flüssigkeiten (a), die in dor Menge von 2,5 ccm mit je einer halben Agarkultur toter (60) Vibrionen durch $^3/_4$ Stunden vorbehandelt waren. Zur Einsaat dienten 7000 Peritonealbazillen.

			Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm	Serum aktiv	0
2.	0,5 ›	› › + Leukozyten	0
3.	0,4 ›	› › + 0,1 ccm Exsudat 56°	0
4.	0,4 ›	› › + 0,1 › › 56° + Leukozyt.	0
5.	0,25 ›	› › + 0,25 › › 56°	0
6.	0,25 ›	› › + 0,25 › › 56° + Leukozyt.	0
7.	0,5 ›	› a	64 000
8.	0,5 ›	› › + Leukozyten	960
9.	0,4 ›	› › + 0,1 ccm Exsudat 56°	172 000
10.	0,4 ›	› › + 0,1 › › 56° + Leukozyten	1 680
11.	0,25 ›	› › + 0,25 › › 56°	304 000
12.	0,25 ›	› › + 0,25 › › 56° + Leukozyten	912
13.	0,5 ›	› $^1/_2$ Stunde 56°	128 000
14.	0,5 ›	› $^1/_2$ › 56° + Leukozyten	466
15.	0,5 ›	Normalexsudatflüssigkeit	0
16.	0,5 ›	› + Leukozyten	0
17.	0,4 ›	› + 0,1 ccm Exsudat 56°	0
18.	0,4 ›	› + 0,1 › › 56° + Leukozyten	0
19.	0,25 ›	› + 0,25 ccm Exsudat 56°	52 000
20.	0,25 ›	› + 0,25 › › 56° + Leukozyten	45
21.	0,5 ›	Exsudatflüssigkeit a	844 000
22.	0,5 ›	› › + Leukozyten	54 000
23.	0,4 ›	› › + 0,1 ccm Exsudat 56°	850 000
24.	0,4 ›	› › + 0,1 › › 56° + Leukozyten	112 000
25.	0,25 ›	› › + 0,25 › Exsudat 56°	160 000
26.	0,25 ›	› › + 0,25 › › 56° + Leukozyten	75 500
27.	0,5 ›	Normalexsudatflüssigkeit $^1/_2$ Stunde 56°	174 000
28.	0,5 ›	› $^1/_2$ › 56° + Leukoz.	0
29.	0,5 ›	NaCl-Lösung	25 000
30.	0,5 ›	› + Leukozyten	1 120

Tabelle VIII.

Zur Verwendung kommen die Exsudate zweier Meerschweinchen, die beide mit 2 Ösen intraperitoneal (3—4 fach tödliche Dosis) infiziert waren. Das Tier a war nach 8 Stunden in agone verblutet worden und hatte im Exsudate massenhaft Vibrionen ohne Granulabildung, am Netz geringe Granulaphagozytose. Das andere Tier b wurde bereits $2^1/_4$ Stunden nach der Infektion verblutet; sein Exsudat enthielt freie Granula neben massenhaften Vibrionen. Aufser Normalserum wurde auch das Serum 1 verwendet, welches in der Menge von 4 ccm mit $^4/_5$ Agarkultur toter Vibrionen vorbehandelt war. Einsaat 812 Peritonealbazillen aus a.

			Nach 4 Stunden
1.	0,5	ccm Serum aktiv	1 632
2.	0,5	» » » + Leukozyten	5
3.	0,45	» » » + 0,05 ccm Exsudat a 56°	6 420
4.	0,45	» » » + 0,05 » » » 56° + Leukoz.	328
5.	0,45	» » » + 0,05 » » b 56°	1 196
6.	0,45	» » » + 0,05 » » » 56° + Leukoz.	248
7.	0,35	» » » + 0,15 » » a 56°	7 300
8.	0,35	» » » + 0,15 » » » 56° + Leukoz.	1 928
9.	0,35	» » » + 0,15 » » b 56°	4 960
10.	0,35	» » » + 0,15 » » » 56° + Leukoz.	2 400
11.	0,5	» » I	11 200
12.	0,5	» » I + Leukozyten	5 120
13.	0,45	» » I + 0,05 ccm Exsudat a 56°	14 000
14.	0,45	» » I + 0.05 » » » 56° + Leukozyten	7 600
15.	0,45	» » I + 0,05 » » b 56°	13 900
16.	0,45	» » I + 0,05 » » » 56° + Leukozyten	6 240
17.	0,35	» » I + 0,15 » » a 56°	30 000
18.	0,35	» » I + 0,15 » » » 56° + Leukozyten	10 300
19.	0,35	» » I + 0,15 » » b 56°	65 000
20.	0,35	» » I + 0,15 » » » 56° + Leukozyten	17 000
21.	0,5	» » 1/2 Stunde 56°	139 000
22.	0,5	» » 1/2 » 56° + Leukozyten	128 500
23.	0,5	» NaCl-Lösung	42 000
24.	0,5	» » + Leukozyten	41 000
25.	0,5	» Serum des infiz. Tieres a aktiv	7 256
26.	0,5	» » » » » » + Leukozyten	812
27.	0,5	» » » » » b »	1 040
28.	0,5	» » » » » » + Leukozyten	9

Bei einem Überblicke dieser Versuche ergibt sich zunächst, daſs der verwendete Choleravibrio sich durch die ganze Reihe der Tierpassagen (12) in seinem Verhalten zu Serum und Zellen nicht geändert hat; er bleibt durchaus empfindlich. Ebenso konstant ist die Erscheinung, daſs die Anwesenheit von Leukozyten, schwache Serumwirkungen verstärken kann, In den meisten Fällen muſste zu diesem Zwecke die Serumbakterizidie künstlich, durch Behandeln mit sensibilisierten oder normalen abgetöteten Vibrionen, aufgehoben werden, Versuche, deren Bedeutung schon oben gewürdigt wurde. Es ist aber von Interesse, zu sehen, daſs auch in jenen als seltene Ausnahme vorkommenden Fällen, wo die Serumwirkung von Natur aus gering ist, wie im Versuche der Tabelle VIII, durch die Leuko-

zyten des gleichen Tieres eine sehr wesentliche Besserung erzielt werden kann.

Was nun die Wirkung der von Vibrionen befreiten Exsudate intraperitoneal infizierter Tiere betrifft, die meist etwa zwei Stunden nach der Infektion entnommen wurden, so ist dieselbe so gut wie nicht vorhanden. Weder die Bakterizidie der Leukozyten noch die des Serums wurde dort, wo sie in der gewöhnlichen starken Weise vorhanden war, auch nur in einem einzigen Falle selbst durch grofse Mengen solcher Exsudate wesentlich beeinträchtigt. Daraus ist sofort zu schliefsen, dafs der untersuchte Choleravibrio ebensowenig wie der Metschnikoffsche Vibrio die Fähigkeit besitzt, die leukozytären Einflüsse zu paralysieren; die mit diesen Mikroorganismen erzeugten Exsudate haben nicht wie beim Milzbrandbazillus die Eigenschaft, die mögliche Leukozytenbakterizidie zu unterdrücken, was, wie neuere Untersuchungen des einen von uns (Suzuki) zeigen, auch für den Typhusbazillus, wahrscheinlich somit für alle halbparisitischen Bakterien zutrifft.

Diese absolute Wehrlosigkeit steht in bestem Einklange mit der absolut und relativ geringen Infektiosität dieser Mikroorganismen im Tierversuch, gegenüber der hohen des Milzbazillus und erklärt in befriedigender Weise den mächtigen Infektionsschutz, den die in der Meerschweinchenbauchhöhle angesammelten Leukozyten, wie auch künstlich zugeführte (Pettersson) gewähren. In der Tat ist die sog. erhöhte Resistenz, welche Meerschweinchen gegen den verwendeten Cholerastamm nach vorhergegangener Injektion von 10 ccm Bouillon erlangen, durch keine Bazillenmenge zu brechen. Die Tiere vertragen mehr als eine ganze Agarkultur; sie können daran schliefslich zugrunde gehen, aber dann geschieht dies ohne eigentliche Infektion, bei keimfreier und doch sehr keimarmer Bauchhöhle.

Die Tatsache, dafs Beseitigung der Säftebakteriolyse mittels abgetöteter Vibrionen, vorausgesetzt dafs diese nicht durch allzumassive Dosen der toten Bazillen erzeugt wird, ebenfalls die Leukozytenwirkung noch zuläfst, geht nicht nur aus den Versuchen mit künstlich der Bakteriolyse beraubten Seren hervor, sie läfst sich selbst in jenen Fällen noch erkennen, wo dem Exsudate

der infizierten Tiere nach Abzentrifugieren der Hauptmasse der darin enthaltenen Vibrionen, Leukozyten zugesetzt wurden. Eine Abtötung aller lebenden Keime war natürlich unter solchen möglichst ungünstigen Umständen nicht zu erwarten, die dennoch erzielte Wirkung ist um so staunenswerter. Es ist ebenfalls oben bereits erwähnt, wie wichtig diese Erscheinung für das Verständnis der Halbparasiteninfektion und der Verteidigungsmittel des Organismus gegen eine solche ist. Sie erklärt dabei aufs beste die von Weil genauer untersuchte Tatsache, dafs auch nach Bindung der bakteriziden Säftewirkung in der Bauchhöhle des lebenden Tieres, unter Umständen also, wo selbst Immunserum eine Infektion nicht mehr verhindern kann, Leukozyten, die in der Bauchhöhle vorhanden sind oder in diese eingeführt werden, noch immer die Vermehrung der Vibrionen mit Erfolg unterdrücken.

Bei diesem mächtigen Schutze, den Meerschweinchen zunächst in ihren Körpersäften, und selbst nach deren Ausschaltung noch in den Leukozyten besitzen, ist eine erfolgreiche Infektion nur dadurch zu verstehen, wenn man die durch die einfachste Beobachtung leicht zu sehende Besonderheit berücksichtigt, dafs eine jede schwerere Halbparasiteninfektion mit Leukopenie der Peritonealhöhle, also mit Abhaltung des Leukozytenzuflusses zu derselben, verbunden ist, und dafs das Charakteristikum einer leichten Infektion der reichliche Zelleintritt in die Bauchhöhle ist. Die Choleravibrionen besitzen, wenn sie nicht von vornherein in übermächtiger Menge eingespritzt werden, gar nicht die Fähigkeit, den Leukozyten und der mit ihr kombinierten Säftewirkung zu widerstehen; wie die erhöhte Resistenz bei Leukozytose der Bauchhöhle zeigt, würde eine intraperitoneale Infektion nur sehr schwer gelingen, wenn nicht die Vibrionen die Fähigkeit hätten, den Zutritt der Leukozyten zu verhindern. Nur dadurch sind sie imstande, zur Vermehrung zu kommen, da die Überwindung der Säfte in der normalen Bauchhöhle offenbar leicht möglich ist. Bekanntlich ist die blofse Bakteriensubstanz in ungelöster wie in gelöster Form imstande, die Säftebakteriolyse, durch Bindung, wie man gewöhnlich annimmt, zu

beseitigen; ist dieses Ereignis eingetreten, so bilden die Leukozyten, wenn sie noch hinzutreten können, die letzte Verteidigungswaffe des bedrohten Organismus. Das Unwirksamwerden der Säfte hindert, wie sowohl die Cholera als die Vibrio Metschnikoffversuche lehren, noch nicht ihr Zusammenwirken mit den Leukozyten; nur daſs diese gar nicht in die Bauchhöhle vordringen können, macht das Tier am Orte der Infektion widerstandslos. Ist dann allerdings eine zu reichliche Vermehrung in den Säften eingetreten, dann würde auch der Leukozytenzutritt nichts mehr helfen, weil diese bei allzureichlicher Anwesenheit von Bazillensubstanz versagen. Immerhin wird man in der Leukozytenabhaltung das wesentliche Moment für das Zustandekommen der Infektion durch Halbparasiten, also das wichtigste Kennzeichen der Aggressivität, zu erblicken haben.

Einen weiteren Beweis für die Bedeutung der Zellen für die Abwehr der Cholerainfektion erhält man, wenn man die Verhältnisse am Netz der infizierten Tiere genauer studiert. Dort sind stets Leukozyten angesammelt, allerdings mit dem Unterschiede, daſs bei ganz schweren Infektionen auch da ihre Zahl relativ gering wird. Aber stets kann man an dieser Stelle Zeichen der wenigstens lokal siegreichen Abwehr der Infektion an der groſsen Zahl intra- und extrazellulärer Granula erkennen. Das Netz bildet aber wohl zweifellos eine jener Stellen, wo die Bauchhöhle mit dem übrigen Körper am leichtesten in Verbindung treten kann, wo also auch Bakterien leicht aus derselben austreten können. Und gerade hier begegnet man Anzeichen erfolgreicher Abwehr, in verschiedenem Grade allerdings, aber immer. Sollte in ähnlichen Verhältnissen die Erklärung für die stets unverstandene Erscheinung zu suchen sein, daſs sich Choleravibrionen auch bei stärkster lokaler Vermehrung nicht unbeschränkt über den ganzen Organismus ausbreiten können?

Daſs es bei einer Vermehrung von Vibrionen in der Flüssigkeit der Bauchhöhle zu einer Ansammlung von gelöster und ungelöster Bakteriensubstanz kommen muſs, ist ohne weiteres verständlich. Um so auffallender ist die bei unserem Cholerastamm ganz regelmäſsig hervortretende Unwirksamkeit des

Exsudates für die Aufhebung der Serumbakteriolyse. Selbst zu gleichen Teilen einem Serum zugesetzt, tritt eine wesentliche Beeinträchtigung von dessen Eigenbakterizidie nicht ein. Innerhalb der ersten zwei Stunden des Infektionsverlaufes spielt also die gelöste Bazillensubstanz keine bemerkenswerte Rolle. Nur daran, dafs in schon künstlich der Bakteriolyse beraubten Seren auf Zusatz des zentrifugierten und erwärmten Exsudates eine Wachstumsverbesserung meistens erzielt wird, läfst sich vielleicht eine minimale Wirkung gelöster Bakterienzubstanz erkennen. Die Zeit, zwei Stunden nach der Infektion, ist aber, wie bereits ausgeführt wurde, für den Erfolg der Infektion die entscheidende.

Um zu sehen, ob die gefundenen Merkmale jeder Cholerainfektion, uuabhängig von dem zum Versuche benützten Stamme, zukommen, wurden noch einige Experimente mit einem, aus dem Pfeifferschen Institute in zuvorkommender Weise überlassenem Cholerastamme »Kraus« angestellt. Die Infektiösitöt desselben betrug zur Zeit der Versuche $^1/_5$ Öse Agarkultur für Meerschweinchen von 200 g.

Tabelle IX.

Exsudat und Vibrionen zur Einsaat liefert ein mit $^1/_2$ Öse intraperitoneal geimpftes, nach 2 Stunden verblutetes Meerschweinchen. Dasselbe enthält Vibrionen, fast ohne Beimengung von Granula. Einsaat 3800 Vibrionen aus dem Exsudate.

			Nach 4 Stunden
1.	0,5	ccm Serum aktiv	26
2.	0,5	› › › + Leukozyten	0
3.	0,5	› › › + 0,1 ccm Exsudat 56°	23
4.	0,5	› › › + 0,1 › › 56° + Leukozyten	12
5.	0,5	› $^1/_2$ Stunde 56°	ungezählt
6.	0,5	› $^1/_2$ › 56° + Leukozyten	›
7.	0,5	› NaCl-Lösung	13 000
8.	0,5	› › + Leukozyten	960

Tabelle X.

Exsudat eines zwei Stunden nach der intraperitonealen Infektion mit 1 Öse verbluteten Meerschweinchens. Dasselbe enthält massenhaft Vibrionen, vereinzelte Granula, keine Zellen. Am Netz finden sich Granula sowohl extra- wie intrazellulär reichlich. Aufser normalem Serum wird noch das Serum a und b, ersteres durch Behandlung von 3 ccm Normalserum mit

$^{8}/_{10}$, letzteres mit $^{3}/_{2}$ Agarkultur 60° gewonnen, verwendet. Einsaat 17 600 Peritonealbazillen. 0,1 ccm Blut des Tieres enthielt 2 200 Vibrionen, das Serum daraus war keimfrei. Das zentrifugierte Peritonealexsudat enthielt in 0,5 ccm 220 000 Vibrionen.

		Nach 4 Stunden
1.	0,5 ccm Serum aktiv	7 400
2.	0,5 › › › + Leukozyten	1 680
3.	0,45 › › › + 0,05 ccm Exsudat 56°	10 800
4.	0,45 › › › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	880
5.	0,35 › › › + 0,15 › › 56°	22 000
6.	0,35 › › › + 0,15 › › 56° + Leukoz.	1 184
7.	0,5 › › a	95 000
8.	0,5 › › › + Leukozyten	160
9.	0,45 › › › + 0,05 ccm Exsudat 56°	382 000
10.	0,45 › › › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	1 400
11.	0.35 › › › + 0,15 › › 56°	400 000
12.	0,35 › › › + 0,15 › › 56° + Leukoz.	1 520
13.	0,5 › › b	ungezählt
14.	0,5 › › › + Leukozyten	52 000
15.	0,45 › › › + 0,05 ccm Exsudat 56°	264 000
16.	0,45 › › › + 0,05 › › 56° + Leukoz.	30 400
17.	0,35 › › › + 0,15 › › 56°	614 000
18.	0,35 › › › + 0,15 › › 56° + Leukoz.	50 000
19.	0,5 › › $^{1}/_{2}$ Stunde 56°	708 000
20.	0,5 › › › 56° + Leukozyten	93 000
21.	0,5 › NaCl-Lösung	96 600
22.	0,5 › › + Leukozyten	7 800
23.	0,5 › Serum des infizierten Tieres	16 000
24.	0,5 › › › › › + Leukozyten . . .	7 800
25.	0,5 › Exsudat des infizierten Tieres aktiv	1 040 000
26.	0,5 › › › › › › + Leukozyten	392 000

Der Cholerastamm scheint in seinem ganzen Verhalten einen Übergang von Vibrio Metschnikoff zur Cholera Pfeiffer zu bilden; in den Hauptpunkten, insbesondere in der schönen Wirkung der Leukozyten auch im erschöpften Serum und nach Mischung mit dem Exsudate der infizierten Tiere stimmen, die damit erzielten Resultate mit den früheren überein.

Über eine Fleischvergiftungsepidemie, bedingt durch den Genuſs verschiedener Fleischwaren.

Von

med. pract. **W. v. Gonzenbach** und Dr. **R. Klinger**,
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Direktor: Professor Dr. W. Silberschmidt.)

Im Mai 1910 kamen in H., einer Ortschaft des Kantons Zürich, eine gröſsere Anzahl von Fällen akuter Gastroenteritis zur Beobachtung, welche alle durch die amtlichen Erhebungen auf den Genuſs von Fleischwaren einer und derselben Metzgerei zurückgeführt werden konnten. Der eigenartige zeitliche Verlauf sowie die relativ groſse Zahl der Erkrankungen verleihen der Epidemie ein allgemeineres Interesse. Wir haben deshalb auf Wunsch von Herrn Prof. Silberschmidt die Ergebnisse der in unserm Institute ausgeführten Untersuchungen im folgenden zusammengestellt.

Wir geben zunächst die ausführlichere Beschreibung der einzelnen Fälle:

Gruppe A. Erkrankungen zwischen 1. bis 3. Mai 1910.

Familie K. Genuſs von gesalzenen Schweinsrippli am 30. IV. abends.

1. K. E. Mann, 44 j., erkrankt am Abend des 1. V. mit Frost, Kopf- und Bauchschmerzen, heftigem Durchfall, groſse Mattigkeit, mehrere Tage bettlägerig, 14 Tage arbeitsunfähig.

2. K. F. Frau, 40 j., Verlauf ganz wie Fall 1, 5 Tage bettlägerig, 14 Tage bis zur Wiederherstellung.
3. Sch. J. Frau, 71 j., in der Nacht vom 1. bis 2. V. mit heftigem Unwohlsein, Erbrechen erkrankt, am andern Tag wieder nahezu gesund.
4. K. J. Sohn, 20 j., erkrankt am 2. V., 4 Tage bettlägerig, 14 Tage rekonvaleszent.
5. K. E. 18 j. Sohn, hat nur wenig vom Salzfleisch gegessen, am 2. V. Kopfschmerzen und Durchfall, bald wiederhergestellt.
6. K. G. Mädchen, am 3. V. Frieren, Durchfall, grofse Müdigkeit, am 10. V. wieder Schulbesuch.

Fam. Bl.

7. Bl. H. Mann, 39 j., Genufs der Rippstückli am 1. V. abends, erkrankt in der Nacht vom 1. bis 2. V. mit Kopf- und Bauchschmerzen, Fieber, Erbrechen, Durchfällen, 14 Tage arbeitsunfähig, auch dann noch sehr schwach.
8. Bl. F. Frau, 36 j., Genufs am 1. V. und 2. V. morgens, erkrankt wie T. 1 Woche bettlägerig, grofse Mattigkeit noch nach 3 Wochen.
9. Bl. A. Mädchen, 13 j., Genufs erst am 2. V., Erkrankung am 3. V., Verlauf wie Fall 8.

Fam. Bch.

10. Bch. Frau, 36 j., Genufs von ungekochten, gesalzenen Wädli am 30. IV. und 1. V., erkrankt 2. V., 11 Tage bettlägerig, nach 3 Wochen noch grofse Schwäche, Appetitlosigkeit, öfters noch Durchfälle.
11. Bch. Mann, Genufs nur am 1. V., erkrankt 2. V. mit Kopfschmerzen, Übelkeit und Mattigkeit, nach 2—3 Tagen Besserung, hat die Arbeit nicht ausgesetzt.

Gruppe B. Erkrankungen zwischen 8. bis 15. Mai.

Genufs von Schwartenmagen (Prefswurst).

Fam. N. Bezug der Wurst 7. V., Genufs 8. V. abends.

12. N. L. 16 j. Mädchen, am 9. V. mit Frost, Kopf- und Bauchschmerzen erkrankt, starker Durchfall, Erbrechen, Fieber, Delirien, 8—9 Tage bettlägerig, 2 Wochen Rekonvaleszenz.
13. N. J. 13 j. Mädchen, am 9. V. mit Brechdurchfall erkrankt, 4 Tage bettlägerig, 14 Tage Rekonvaleszenz.
14. N. A. 10 j. Mädchen, zuerst (9. V.) nur Unwohlsein, ernstlich krank erst am 11. V., Leibschmerzen, leichterer Durchfall, Erbrechen, 2 Tage bettlägerig, dann Schulbesuch.

    Mutter und ein Sohn hatten ein anderes, gleichzeitig gekauftes Stück Schwartenmagen gegessen und blieben gesund; ebenso der Vater, der keine Wurst gegessen hat.

Fam. P.

15. P. Mann, 39 j., Einkauf und Genufs am 7. V. abends, am 8. V. morgens erkrankt, 6 Tage bettlägerig, 11 Tage arbeitsunfähig.

16. P. Kind, 3 j., hat ein kleines Stückchen Wurst gegessen, erkrankt wie 15, 4 Tage Diarrhöen.

Eine Katze, die auch von der Wurst bekommen, ist ebenfalls an Durchfall erkrankt.

Fam. St., wohnhaft in K, einem Ort in der Nachbarschaft von H. Einkauf der Wurst in H am 7. V., Genufs am 8. V. abends.

17. H. E. Frau, 42 j., am 9. V. Brechdurchfall, Schwindel, Kopfschmerzen, Fieber, nach 14 Tagen konnte Pat. das Bett verlassen, war aber sehr schwach. Nach einigen Tagen kam es zu einem Rückfall, so dafs Pat. wieder bettlägerig wurde. Nach 6 Wochen einigermafsen hergestellt.
18. St. K. Mann, 36 j., erkrankt in der Nacht 8./9. V., am nächsten Tag schon Besserung, nach 3 Tagen wieder gesund.
19. St. Kind, 5 j., Erkrankung wie 18. 3 Tage bettlägerig, 2 Wochen Rekonvaleszenz.

Andere Familienmitglieder, die nicht von der Wurst gegessen, blieben gesund.

Fam. W.

20. W. H. Mann, 47 j., Genufs der Wurst am 8. V. abends, am 9. V. Frost, Erbrechen, Durchfall, heftige Leibschmerzen. An den folgenden Tagen halten die schwarzgrünen, aashaft riechenden Entleerungen an, Pat. erbricht alle Nahrung. Fieber 40°, später 38—39°. Am 20. V. sehr schwach, Augen eingesunken, Nase bläulich, Extremitäten bläulich, kühl. Puls klein, 90. Temp. 36°; leicht benommen. Abdomen aufgetrieben. Stuhl noch immer häufig, zuweilen Erbrechen. Gestorben am 20. V. abends. Die Sektion ergab: Im Duodenum und obern Jejunum graurote, geschwollene Schleimhaut mit zahlreichen, oft zusammenfliefsenden Blutungen, keine Geschwüre, Follikel nicht geschwollen. Ileum wenig verändert. Im Coecum stark geschwollene Schleimhaut mit ausgedehnten Blutungen, viele linsen- bis bohnengrofse Geschwüre mit zernagtem Rand, bis in die Muscularis reichend, (ohne zu perforieren). Diese pathologischen Veränderungen nehmen im weiteren Verlauf des Kolons an Intensität allmählich ab, doch finden sich einzelne Geschwüre noch im Rectum. Mesenteriale Drüsen linsen- bis bohnengrofs, im Durchschnitt graurot, ohne Blutungen. Nierenkapsel abziehbar, Grenze zwischen Rinde und Markschichte verwaschen. Fettige Degeneration von Niere, Leber, Herzmuskel.
21. W. S. Sohn, 16 j., Genufs am 9. V., erkrankt 10. V. unter Erbrechen und Durchfall. 4 Tage bettlägerig, dann noch einige Zeit rekonvaleszent.

Die Mutter hat keine Wurst gegessen und blieb gesund.

Fam. Wd.

22. Wd. Frau, am 9. V. abends Wurst gegessen, in der Nacht mit Übelkeit, Erbrechen, Durchfall erkrankt, bis 14. V. bettlägerig.

Der Mann hat nicht von der Wurst gegessen und blieb gesund.

Fall Cl.

23. Cl. 28 j. Mann, am 9. V. Wurst gekauft und gegessen; in der Nacht bereits Erbrechen und Durchfall, hat am 10. V. noch zu arbeiten versucht, mufste dann aber ins Bett, längere Zeit grofse Schwäche, 14 Tage arbeitsunfähig.

Fam. Mk.

24. Mk. J. Mann 35 j., Bezug und Genufs am 9. V., den Rest der Wurst am 10. V. mittags gegessen, erkrankt am selben Nachmittag, Fieber, Kopfweh, grünes Erbrechen, Bauchschmerz und Durchfall. 7 Tage bettlägerig, nach 14 Tagen noch sehr schwach.
25. Mk. L. Kind, 6 j., erkrankt wie 24. Delirien. 1 Woche bettlägerig.

Die Frau und ein Kind, welche nicht von der Wurst gegessen haben, bleiben gesund.

Fam. Schk.

26. Schk. E. Frau, 36 j. Bezug am 12. V., Genufs der Wurst am 13. V. früh. Erkrankt in der folgenden Nacht unter Fieber, Kopfweh, Erbrechen, starken Leibschmerzen und Durchfall. 3 Wochen bettlägerig.
27. Schk. Sohn, 10 j., erkrankt am 13. V. abends, 3 Tage bettlägerig.
28. Schk. Kind, 5 j., erkrankt 13. V. abends. 5 Tage bettlägerig. Beide Kinder 14 Tage rekonvaleszent.
29. Schk. Schwiegermutter, 57 j., Genufs am 13. V. 11 h und 2 h. Am 14. V. früh Magenkrämpfe, Leibschmerzen, Kopfweh, Erbrechen, grünschwarze, sehr übelriechende Entleerungen, grofse Schwäche. 6 Tage bettlägerig, dann noch lange Zeit sehr schwach.

Der Mann und 2 Kinder, die keine Wurst gegessen haben, bleiben gesund.

Fam. Schl. Genufs des Schwartenmagens am 12. V. mittags.

30. Schl. Mann, 48 j., erkrankt 13/14. V. mit Kopfschmerzen, Frost, Durchfall, grofse Schwäche. 3 Tage bettlägerig, dann langsame Besserung
31. Schl. Frau, erkrankt am 14. V. früh wie 30.
32. Schl. A. 17 j., erkrankt 13. V. wie 30. Grünschwarze, stinkende Diarrhöen. 4 Tage bettlägerig, dann noch längere Zeit sehr schwach.
33. Schl. H. 13 j., erkrankt wie 32. 5 Tage bettlägerig.
34. Schl. J. 10 j., erkrankt wie 32. 8 Tage bettlägerig, 3 Wochen bis zur Wiederherstellung.

2 Kinder, die keine Wurst bekommen haben, bleiben gesund. Eine Katze, die davon gegessen, hat 3 Tage starken Durchfall.

Fall Z.

35. Z. Mann, 43 j., Genufs am 12. V. Das Wurststück fiel nach Angabe des Patienten in der Mitte auseinander, weshalb er die Hälfte wegwarf. Am 13. V. früh Erbrechen grünschwarzer Massen, fast beständiger, sehr stinkender Stuhlabgang, unstillbares Erbrechen, Schwäche bis zum Kollaps. In den nächsten Tagen allmähliche Besserung, 29 Tage arbeitsunfähig. Die Frau hat nichts von der Wurst gegessen und blieb gesund.

Fall Wg.

36. Wg. am 12. V. Wurst gekauft und gegessen. In der Nacht erkrankt mit Frost, Übelkeit, Erbrechen, starken Kopf- und Leibschmerzen. Durchfälle 1 Woche anhaltend. Grofse Schwäche. 7 Tage bettlägerig.

Fam. Mz. Genufs der Wurst am 12. V.

37. Mz. K. 38 j. Mann, erkrankt 13. V. 6 Tage krank.
38. Mz. S. 48 j. Frau, afs nur wenig, erkrankte am 14. V., war nur wenige Tage krank.
39. Mz. Kind, 8 j., am 13. V. mittags Frösteln, Durchfall, bald wiederhergestellt.

Fall Sch. M.

40. Mädchen, 8 j., am 12. V. einen Wurstzipfel gegessen, am 13. V. mit Brechdurchfall, rotem Ausschlag, hohem Fieber erkrankt. 3 Wochen krank.

Fam. Fr.

41. Fr. E. Mann, 36 j., Genufs 13. V. abends, am 14. V. unter Fieber und Brechdurchfall erkrankt, grofse Prostration. 5 Tage bettlägerig. 2 Wochen arbeitsunfähig.
42. Fr. Frau, Genufs am 14. V. früh. In der Nacht mit Brechdurchfall und Krämpfen erkrankt, 4 Tage bettlägerig, 7 Tage arbeitsunfähig.
43.
44. } Kinder, nur wenig gegessen, leicht erkrankt und Diarrhö.
45. G., Arbeiter bei Fr., bekam am 14. V. früh den Rest der Wurst. Am 16. V. unter Fieber und Brechdurchfall erkrankt, papulöses Exanthem an den Extremitäten. 4 Tage bettlägerig, 14 Tage arbeitsunfähig.

Fam. Egl. Genufs am 19. V. abends.

46. Egl. Frau, 40 j., erkrankt 14. V. mittags unter unaufhörlichem Erbrechen, stark Leibschmerzen und Durchfall, längere Rekonvaleszenz.
47. Egl. B. Kind, 15 j., Verlauf wie 46.

Fall St.

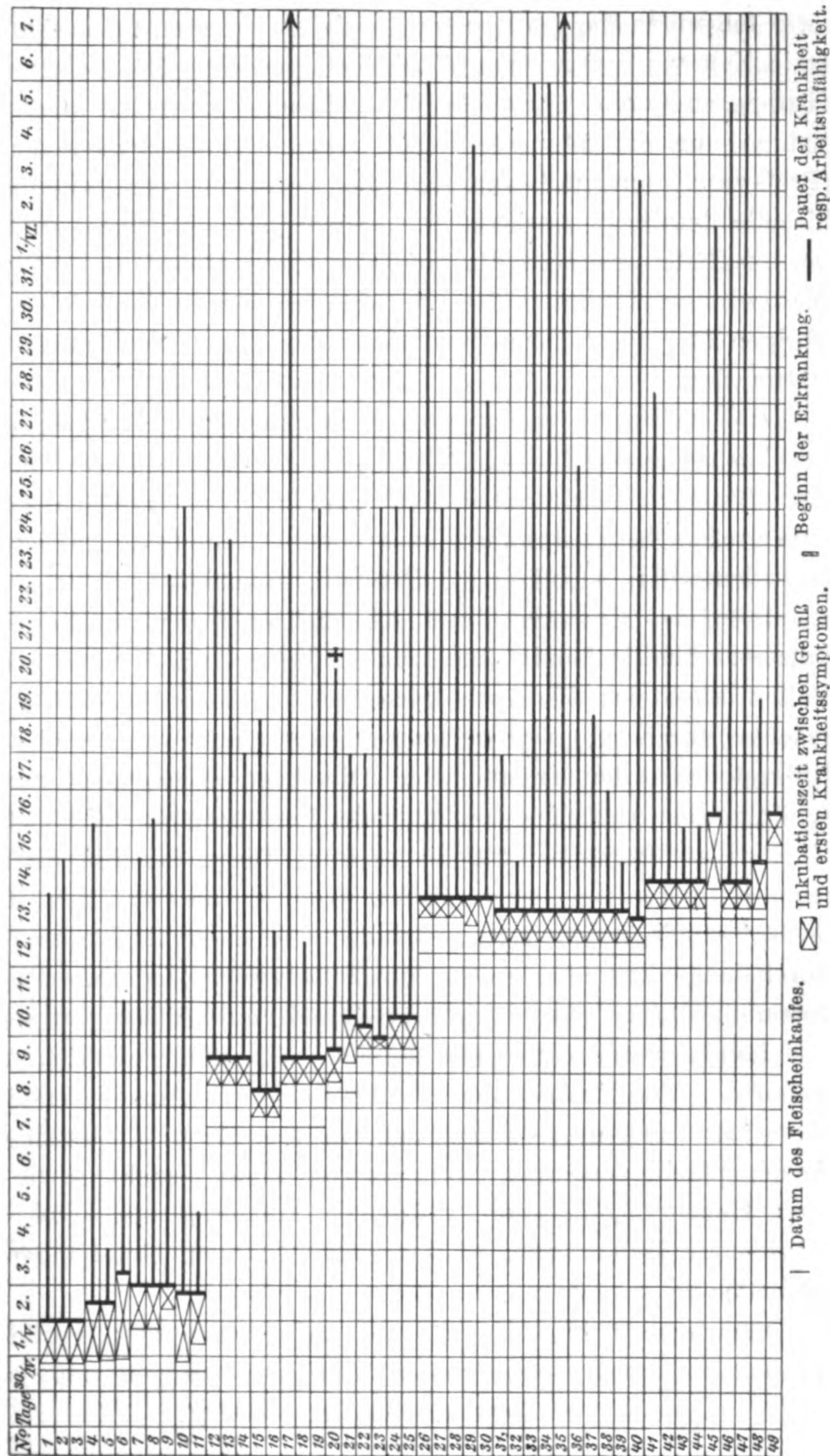
48. Mann, 33 j., hat am 13. V. Cervelatwurst gekauft, am 14. früh und abends gegessen. Erkrankt 14/15. V. 1—2 Tage bettlägerig. 5 Tage arbeitsunfähig.

Fall Au.

49. 13 j., Genufs am 15. V., erkrankt 16. V. 7 Tage bettlägerig, längere Rekonvaleszenz.

Wie aus der obigen Zusammenstellung ersichtlich ist, erkrankten im ganzen 49 Personen. Diese Erkrankungen sondern sich in zwei Gruppen: Die erste Gruppe umfafst 11 Fälle, welche nach Genufs von Salzfleisch auftraten. Der Einkauf desselben fällt auf den 30. April, Genufs und Erkrankung auf die

(Fortsetzung des Textes S. 386).



Übersichtliche Zusammenstellung der Fälle von Fleischvergiftung in H., Kanton Zürich.

zwei folgenden Tage. Dann kam eine an weiteren Erkrankungen freie Zeit von etwa einer Woche, worauf die Fälle der zweiten Gruppe einsetzen. Sämtliche Erkrankungen dieser Gruppe (Ausnahme nur Fall 48) traten nach Genufs von Schwartenmagen (Prefswurst) auf und verteilen sich, wie aus der beigefügten Tabelle deutlich zu erkennen ist, wieder auf zwei Untergruppen: bei 14 Fällen erfolgte die Infektion nach Genufs von Wurst, die zwischen 7. und 9. Mai bezogen worden, während bei den übrigen 24 Fällen Einkauf und Erkrankung erst nach dem 12. Mai stattfanden.

Die Mehrzahl der Patienten erkrankte innerhalb 24 Stunden, nur bei einem (leichteren) Fall (6) war die Inkubationszeit länger als 2 Tage. Das Krankheitsbild zeigt bei den einzelnen Fällen eine grofse Übereinstimmung und bot die Symptome der akuten Gastroenteritis: Übelkeit mit Frösteln, intensive Leibschmerzen, Kopfschmerz, Erbrechen und sehr zahlreiche, mifsfarbige und äufserst übelriechende Darmentleerungen. In den schweren Fällen blieb das Fieber längere Zeit bestehen, das Erbrechen machte durch Tage jede Nahrungsaufnahme unmöglich und bedingte mit den andauernden Diarrhöen einen sehr starken Kräfteverlust und lang andauernde Erschöpfung. Ein Patient (49 jähriger Mann, Fall 20,) ist nach 11 Tagen der Infektion erlegen. In den leichteren Fällen konnten die Kranken meist nach 4—6 Tagen das Bett verlassen, aber auch bei diesen blieb durch lange Zeit eine grofse Schwäche zurück, so dafs Rekonvaleszenz und Arbeitsunfähigkeit sich meist auf Wochen erstrecken.

Leider wurde erst spät, nämlich nach dem gehäuften Auftreten der Vergiftungen der zweiten Reihe, die Anzeige erstattet. Es erklärt sich dies daraus, dafs in der Schweiz zurzeit eine Anzeigepflicht derartiger Erkrankungen nicht besteht, sowie aus dem Umstande, dafs die einzelnen Patienten sich von verschiedenen Ärzten behandeln liefsen. Aus den Erhebungen ist folgendes zu entnehmen.

Sämtliche Erkrankungen sind auf Fleischwaren zurückzuführen, die in der betreffenden Metzgerei bezogen und, ohne nochmals gekocht zu werden, genossen wurden.

Das Rohmaterial, welches zu den vergifteten Fleischwaren verwendet wurde, stammt sicher von gesunden Tieren, da während längerer Zeit vor Ausbruch der Epidemie keinerlei bedingt bankwürdiges oder minderwertiges Fleisch in dem betreffenden Orte zugelassen wurde, wie aus der amtlichen Kontrolle des Viehverkehrs nachgewiesen werden konnte. Andere Kunden der Metzgerei, welche frisches Fleisch bezogen haben, sind nicht erkrankt. (Zwei Fälle, die am 13./14. Mai nach Genufs von gebratenem Kalb- resp. Schweinefleisch aufgetreten sein sollen, bleiben in ihrer Ätiologie unklar.)

Der Schwartenmagen, welcher den gröfseren Teil der Epidemie verursachte, wurde am 28. April in der üblichen Weise angefertigt. Diese besteht darin, dafs das hierzu bestimmte Rohmaterial — gewöhnlich Abfälle und Fleischreste vorher geschlachteter Rinder (meist auch Wurstreste u. dgl.) — 2 Stunden gekocht, dann von Hand klein geschnitten und in die Därme gefüllt wird. Später werden die so bereiteten, ziemlich dicken Würste nochmals etwa 20 Minuten in heifses, aber nicht mehr siedendes Wasser gelegt, dann abgekühlt und über Nacht leicht geräuchert. — Nach Angabe des Metzgers war zu den Würsten kein Schweinefleisch verwendet worden. Die Präcipitationsreaktion mit einem uns durch Herrn Geheimrat Prof. Uhlenhut gütigst zur Verfügung gestellten Anti-Schweineserum ergab ebenfalls keinen Anhaltspunkt für die Anwesenheit von Schweinefleisch in den betreffenden Würsten.

Das Salzfleisch, welches die ersten Erkrankungen verschuldete, wurde am 30. April, nachdem es längere Zeit eingepökelt gewesen, 2—2½ Stunden gekocht, dann in kaltem Wasser abgespült und auf einem gröfseren Bleche im Verkaufslokal noch warm an die Kunden abgegeben.

An dem zwischen beiden Tagen liegenden 29. April wurde in der Metzgerei in Abwesenheit des beamteten Fleischbeschauers ein Schwein geschlachtet, welches am Nacken einen Eiterherd hatte. Dieser wurde vom Metzgerburschen herausgeschnitten und auf einen in der Nähe befindlichen Holzblock gelegt. Im übrigen soll das geschlachtete Tier gesund gewesen sein, so dafs

der am folgenden Tage gekommene Fleischbeschauer, der den herausgeschnittenen Abszefs nicht mehr gesehen hat, das Fleisch als bankwürdig erklärte.

Die Besichtigung der Metzgerei ergab keine auffallende Unreinlichkeit, nur fiel eine relativ hohe Temperatur des Raumes, in welchem die Würste hergestellt werden, auf.

Am 14. Mai wurden uns zwei in der Metzgerei beschlagnahmte Wurststücke eingesandt, welche nach Angabe des Metzgers Reste des am 28. April gemachten Schwartenmagens bildeten.

Das eine davon erschien nach Aussehen und Geruch nicht verdächtig, während das andere Stück auf der Schnittfläche trocken und bröckelig war. Die kulturelle Verarbeitung erfolgte so, dafs aus der Mitte der Wurst die verschiedenen Bestandteile mit sterilen Instrumenten herauspräpariert und in etwas sterilem Wasser zerkleinert und aufgeschwemmt wurden. Von dieser Aufschwemmung wurden verschiedene aërobe und anaërobe Kulturen angelegt und überdies wurde das Material auf grofsen Platten mit den Spezialnährböden von Drigalski-Conradi, Endo und Padlewsky verarbeitet. Während wir auf den gewöhnlichen Nährböden hauptsächlich Trauben- und Kettenkokken, Sarzinen etc. in ziemlich grofser Zahl fanden, gingen auf den Padlewsky-Platten neben grünen, Coli entsprechenden Kolonien, mehrere blasse, ziemlich grofse Kolonien an von Gram-negativen, sehr stark beweglichen Stäbchen, deren kulturelles Verhalten nachstehend zusammengestellt ist:

Gelatine	Wachstum wie Coli.
Traubenzuckerbouillon . .	Gasbildung.
Milchzuckerbouillon . . .	keine Gasbildung.
Barsiekow-Traubenzucker .	rot, geronnen am 7. Tag.
» -Milchzucker . .	blau.
» -Mannit . . .	rot, geronnen nach 10 Tagen.
Lackmusmolke.	rot, Umschlag nach 12 Tagen.
Milch	Aufhellung und Gelbfärbung nach 14 Tagen.
Schwefelwasserstoffbildung	gut.
Indolbildung	fehlt.

Dieser im folgenden als Wurst H bezeichnete Stamm erwies sich also durch seine kulturellen Eigenschaften als zur Gruppe der Enteritisbakterien gehörig. Auf sein serologisches Verhalten, also sein Agglutininbindungs- und -bildungsvermögen werden wir später zu sprechen kommen.

Um uns über das Vorkommen derartiger Bakterien in Wurstwaren überhaupt zu orientieren, verarbeiteten wir ein weiteres Stück ganz frischen, einwandfreien Schwartenmagens aus einer Metzgerei der Stadt Zürich in ganz gleicher Weise. Es gelang uns auch hier, auf Padlewsky-Platten neben einer ganzen Anzahl von Colikolonien einige blasse Kolonien Gram-negativer, gut beweglicher Stäbchen zu züchten, deren weiteres kulturelles Verhalten folgendes ergab:

Gelatine	Wachstum wie Coli.
Traubenzuckerbouillon . .	Gasbildung.
Milchzuckerbouillon . . .	keine Gasbildung.
Barsiekow-Traubenzucker .	rot, geronnen nach 3 Tagen.
» -Milchzucker . .	erst blau, dann allmählich rot, ohne Gerinnung nach 14 Tagen.
» -Mannit	rot, geronnen nach 7 Tagen.
Lackmusmolke	auch nach 18 Tagen noch rot.
Milch	nach 4 Wochen unverändert.
Schwefelwasserstoffbildung	fehlt.
Indolbildung	fehlt.

Dieser im folgenden als Wurst Z bezeichnete Stamm erwies sich also bei eingehender kultureller Untersuchung doch als verschieden. Er büſste im Lauf der Zeit seine Beweglichkeit ein, die Lackmusmolke blieb rot, Barsiekow-Milchzucker wurde nach 14 Tagen gerötet, dagegen fehlten ihm im Gegensatz zu typischem Coli Indolbildung und Milchgerinnung; die Milch wurde weder zur Gerinnung gebracht, noch aufgehellt, was weder für typischen Coli noch für typischen Paratyphus B spricht.

Am 17. Mai gelangte Stuhl von 2 Patienten W (Nr. 20) und Z (Nr. 35) zur Untersuchung. Der Stuhl wurde auf Endo-Padlewsky- und Conradi-Brillantgrünplatten verarbeitet.

Pat. W ergab auf allen 3 Platten zahlreiche Kolonien von Gram-negativen, gut beweglichen Stäbchen mit folgendem kulturellen Verhalten:

Gelatine	Wachstum wie Coli.
Traubenzuckerbouillon . .	Gasbildung.
Milchzuckerbouillon . . .	keine Gasbildung.
Barsiekow-Traubenzucker .	rot, geronnen nach 3 Tagen.
» -Milchzucker . .	bleibt blau.
» -Mannit	erst violett, dann rot, trüb nach 10 Tagen.
Lackmusmolke	zuerst rot, Umschlag in blau nach 14—16 Tagen.
Milch	Aufhellung und Gelbfärbung nach 14 Tagen.
Schwefelwasserstoffbildung	gut.
Indolbildung	fehlt.

Patient Z. ergab ebenfalls ziemlich zahlreiche Kolonien eines Gram-negativen Stäbchens, das zwar anfangs nur schwach, nach einmaliger Umimpfung auf Agar aber gut beweglich war und folgendes kulturelle Verhalten darbot:

Gelatine	Wachstum wie Coli.
Traubenzuckerbouillon . .	Gasbildung.
Milchzuckerbouillon . . .	keine Gasbildung.
Barsickow-Traubenzucker .	rot, geronnen nach 3 Tagen.
» -Milchzucker . .	bleibt blau.
» Mannit	rot, nach 10 Tagen Trübung.
Lackmusmolke	rot, violett nach 12 Tagen.
Milch	Aufhellung und Gelbfärbung nach 14 Tagen.
Schwefelwasserstoffbildung	gut.
Indolbildung	fehlt.

Diese beiden Stämme »Stuhl W« und »Stuhl Z« stimmen also kulturell ziemlich genau miteinander überein mit dem einzigen Unterschied, daſs vielleicht in Lackmusmolke der Umschlag in Blau

bei Stuhl Z. nicht ganz vollständig eintritt. Im übrigen fällt bei beiden das späte Eintreten des Umschlags, erst am 12.—14. Tag, auf.

Zum weiteren Vergleich zogen wir noch einen Paratyphus-B-Stamm unserer Sammlung und einen Gärtnerstamm, den wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Sobernheim, Berlin, verdanken, heran.

Umstehende Tabelle gibt eine Übersicht über das kulturelle Verhalten aller erwähnten Stämme.

Gleichzeitig mit den Stuhlproben wurde uns auch Blut von den beiden Patienten W (20) und Z (35) eingesandt. Kulturell liefsen sich darin keine Mikroorganismen nachweisen. Die Blutproben wurden auf ihr agglutinatorisches Verhalten gegenüber den beiden Stuhlstämmen, den beiden Schwartenmagenstämmen, einem Gärtnerbazillus, einem Paratyphus B-Stamm unserer Sammlung und einem Typhusstamm untersucht. Die Ergebnisse der Prüfung zeigt nachstehende Tabelle:

	Serum-Verdünnung	Stuhl W	Stuhl Z	Wurst H	Wurst Z	Enteritis Gärtner	Paratyphus B	Typhus
Serum W	1 : 25	+	+	+	+	+	+	—
	1 : 50	+	+	+	±	+	+	—
	1 : 100	+	+	+	—	+	±	—
	1 : 200	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 400	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 800	—	+	±	—	+	—	—
Serum Z	1 : 25	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 50	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 100	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 200	+	+	+	—	+	—	—
	1 : 400	—	—	±	—	—	—	—
	1 : 800	—	—	—	—	—	—	—

Die Betrachtung obiger Tabelle ergibt, dafs die drei aus Stuhl und verdächtiger Wurst isolierten Mikroorganismen dem Bact. enteritis Gärtner entsprechen und sich sowohl gegenüber Paratyphus B der Sammlung als gegenüber Typhus verschieden verhalten.

(Fortsetzung des Textes S. 393.)

Nr.	Stamm	Beweglichkeit	Traubenzuckerbouillon	Milchzuckerbouill.	Barsikow Traubenzucker	Barsikow Milchzucker	Barsikow Mannit	Lackmusmolke	Milch	SH_2	Indol	Proteinochrom
1	Stuhl W	gut	Gas	—	rot, geronnen nach 3 Tg.	bleibt blau	erst violett, dann rot und trüb nach 10 Tg.	zuerst rot, Umschlag in Blau nach 14—16 Tg.	Aufhellung und Gelbfärb. nach 14 T.	gut	—	+
2	Stuhl Z	gut	Gas	—	rot, geronnen nach 3 Tg.	bleibt blau	wie 1	zuerst rot, violett nach 12 Tg.	wie 1	gut	—	+
3	Wurst H	gut	Gas	—	violett, dann rot, geronnen nach 7 Tg.	bleibt blau	wie 1	zuerst rot, Umschlag in Blau nach 12 Tg.	wie 1	gut	—	+
4	Kontrollwurst Zürich	gut	Gas	—	rot, geronnen nach 3 Tg.	zuerst blau, dann allmählich rot, ohne Trübung nach 14 Tg.	rot, geronnen nach 7 Tg.	rot, auch nach 18 Tg. rot	nach 4 Wochen unverändert	kein	—	+
5	Gärtnerstamm	gut	Gas	—	rot, geronnen nach 2 Tg.	bleibt blau	violett, rot und trüb nach 14 Tg.	rot, Umschlag in Blau nach 2 Tg.	wie 1	gut	—	+
6	Paratyphus-B-Stamm	gut	Gas	—	rot, geronnen nach 2 Tg.	bleibt blau	violett, rot und trüb nach 4 Tg.	rot, Umschlag in Blau nach 6 Tg.	wie 1	gut	—	+

Um die Frage serologisch weiter zu prüfen, wurden einige Tiere mit dem Stamm Wurst H und Enteritis Gärtner immunisiert. Es gelang uns dies aber nur unter erheblichen Tierverlusten. Lebende und mit Äther abgetötete Kulturen erwiesen sich als in hohem Maſse tierpathogen. $^1/_{20}$ Öse von Wurst H und $^1/_{45}$ Öse Enteritis Gärtner lebend intravenös injiziert töteten Kaninchen innerhalb 24 Stunden.

Ebenso gingen uns zwei Kaninchen nach intravenöser Injektion von je $^1/_2$ mit Äther abgetöteter Agarkultur von Wurst H und Enteritis Gärtner zugrunde. Meerschweinchen erlagen der subkutanen Injektion von je 1 Öse mit Äther abgetöteter Kultur der beiden Stämme.

Es sei hier kurz erwähnt, daſs Versuche zur Bestimmung der Giftwirkung von mit Hitze abgetöteten und von filtrierten Kulturen zu negativen Resultaten geführt haben. Ein Kaninchen und ein Meerschweinchen ertrugen $^1/_5$ Agarkultur, auf 100° erhitzt, mit nur geringen Krankheitserscheinungen. Auch die Injektion von 1—2 ccm Bouillonfiltrat erwies sich bei Meerschweinchen intraperitoneal als wenig wirksam.

Die Immunisierungsversuche an Meerschweinchen lieferten mit Wurst H und Enteritis Gärtner ungünstige Resultate. Wir begannen mit subkutaner Injektion von $^1/_2$ Öse mit Äther abgetöteter Agarkultur. Die Injektionen wurden in Intervallen von 5—7 Tagen mit steigenden Dosen, mit Wurst H bis $^1/_{12}$, mit Enteritis Gärtner bis $^1/_8$ Kultur wiederholt, ohne daſs es gelang, den Titer der Sera über 1 : 500 zu steigern.

Bei der Immunisierung von Kaninchen hielten wir uns an das Verfahren von Sobernheim und Seligmann[1]) mit dem Unterschied, daſs wir zur intravenösen Injektion statt einer Anfangsdosis von $^1/_{20}$ Öse eine solche von $^1/_{60}$ Öse lebender Kultur wählten. Das mit Wurst H behandelte Tier erhielt dann in Intervallen von 5—8 Tagen $^1/_{40}$, $^1/_{30}$ und $^1/_{30}$ Ösen. Es ertrug die Injektionen ohne besondere Krankheitssymptome, und sein Serum erreichte 8 Tage nach der letzten Injektion einen Titer von 1 : 16000.

---

[1]) Zeitschrift für Immunitätsforschung VI. Bd. S. 409.

Das mit Enteritis Gärtner behandelte Kaninchen nahm nach der ersten Injektion innerhalb 6 Tagen um 200 g an Gewicht ab und zeigte nach der zweiten Injektion von $^{1}/_{40}$ Öse so schwere Krankheitssymptome (Abmagerung, Schwäche in den Beinen etc.), daſs wir weitere Injektionen unterlieſsen. Es erholte sich dann langsam und sein Serum wies nach 3 Wochen den Titer von 1 : 16 000 auf.

Die Prüfung dieser beiden Immunsera mit ihren homologen Stämmen sowie mit den Patientenstämmen Stuhl W und Stuhl Z, mit Wurst Z und mit einem Paratyphus B der Sammlung ergab das aus nachstehender Tabelle ersichtliche Resultat:

	Serum-Verdünnung	Stuhl W	Stuhl Z	Wurst H	Wurst Z	Enteritis Gärtner	Paratyphus B
Immun-Serum Gärtner	1 : 50	+	+	+	—	+	+
	1 : 500	+	+	+	—	+	±
	1 : 2000	+	+	+	—	+	—
	1 : 4000	+	+	+	—	+	—
	1 : 8000	+	+	±	—	+	—
	1 : 16000	±	±	—	—	±	—
Immun-Serum Wurst H	1 : 50	+	+	+	—	+	—
	1 : 500	+	+	+	—	+	—
	1 : 2000	+	+	+	—	+	—
	1 ; 4000	+	+	+	—	+	—
	1 : 8000	+	+	+	—	+	—
	1 : 16000	+	+	+	—	+	—

Nachdem diese Agglutinationsversuche uns deutlich die Zugehörigkeit der Stämme Wurst H, Stuhl W und Stuhl Z zum Gärtnertypus gezeigt hatten, blieb uns noch übrig, ihr Verhalten gegenüber Paratyphus-, Typhus- und Normalserum zu prüfen. Wir verwendeten dazu ein Paratyphus-Patientenserum aus unserer Untersuchungsstation, ein Paratyphus-Testserum, das uns vom Schweizerischen Serum- und Impfinstitut, Bern, freundlichst zur Verfügung gestellt wurde, ein Typhus-Testserum und Normalserum.

Die Resultate dieser Prüfung erhellen aus nachfolgender Tabelle.

	Serum-Verdünnung	Stuhl W	Stuhl Z	Wurst H	Wurst Z	Enteritis Gärtner	Paratyphus B
Paratyph.-B-Testserum Titer 1:10000	1 : 50	+	+	+		+	+
	1 : 500	+	+	+	wurde	+	+
	1 : 1000	—	—	—	nicht	—	+
	1 : 2500	—	—	—	unter-	—	+
	1 : 5000	—	—	—	sucht	—	+
	1 : 10000	—	—	—		—	+
Paratyph.-B-Pat.-Serum Titer 1 : 6000	1 : 50	+	+	+	—	+	+
	1 : 100	+	+	±	—	+	+
	1 : 200	±	+	—	—	—	+
	1 : 1600	—	—	—	—	—	+
	1 : 3200	—	—	—	—	—	+
	1 : 6400	—	—	—	—	—	+
Typhus-Testserum Titer 1:20000	1 : 50	+	—	+	—	+	+
	1 : 500	+	—	+	—	+	+
	1 : 2500	—	—	—	—	—	—
	1 : 5000	—	—	—	—	—	—
	1 : 10000	—	—	—	—	—	—
	1 : 20000	—	—	—	—	—	—
Normal-serum	1 : 25	—	—	—	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	—	—	—
	1 : 100	—	—	—	—	—	—
	1 : 200	—	—	—	—	—	—

Die Agglutination beobachteten wir stets mikroskopisch bei schwacher Vergröfserung Leitz, Obj. 3, Ok. 1. Durch Vorschieben der Irisblende (ziemlich eng) erhalten wir ein dunkles Gesichtsfeld, in dem die Bakterien als hell aufleuchtende, wegen ihrer Beweglichkeit lebhaft flimmernde Splitterchen erscheinen. Bei dieser nach dem Prinzip der Dunkelfeldbeleuchtung arbeitenden Methode haben wir stets Übersicht über einen grofsen Teil des Tropfens, und wir können die Agglutination in allen ihren Graden, von der beginnenden Häufchenbildung bis zum starren Verklumpen des ganzen Materials, sehr gut überblicken. Wir beobachteten dabei auch die Differenz in der Art der Agglutination

zwischen Paratyphus B und Gärtnerstämmen, wie sie Sobernheim und Seligmann[1]) angeben, sehr deutlich, d. h. das grobflockige Ausfallen der Paratyphus-B-Stämme gegenüber der feinkörnigen Agglutination der Gärtnerstämme. Auch hier zeigten die Stämme Wurst H, Stuhl W und Stuhl Z ihre Zugehörigkeit zum Gärtnertypus, indem wir bei ihnen nie das grobflockige Zusammenballen der Paratyphus-B-Stämme beobachteten. Sie wurden vielmehr, wenn überhaupt Agglutination erfolgte, zu feinen Klümpchen respektive zu Häufchen von relativ nur wenigen Bakterien agglutiniert.

Der übereinstimmende Ausfall der Agglutinationsreaktion mit Immun- und Patientenseris gestattet, eine Identität der drei Stämme Wurst H, Stuhl W und Stuhl Z anzunehmen. Das Agglutininbindungsvermögen im Verein mit der agglutinogenen Eigenschaft des Stammes Wurst H läſst sie uns mit Bestimmtheit der Gruppe der Gärtnerbazillen einreihen.

Zusammengefaſst sind die Untersuchungsergebnisse folgende: Von den beobachteten 49 Fällen erkrankten 11 nach Genuſs von gesalzenem Schweinefleisch, 38 nach Genuſs von Schwartenmagen (aus Rinderabfällen hergestellt). Personen, die andere Fleischwaren zur selben Zeit an gleicher Stelle bezogen und genossen, blieben gesund. Die einzelnen Fälle boten übereinstimmend das Bild der gewöhnlichen Fleischvergiftung mit vorwiegend gastroenteritischen Erscheinungen. Es war somit nur ein Teil der verkauften Waren infiziert. Das Rohmaterial derselben stammte nicht von kranken Tieren, sondern ist nachträglich bei der Verarbeitung infiziert worden. Als Ursache der beobachteten Massenerkrankung konnten wir sowohl in der verdächtigen Wurst als auch im Stuhl zweier Kranken einen Mikroorganismus nachweisen, der sich kulturell wie die Bakterien der Enteritisgruppe verhält. Die serologische Untersuchung ergab eine hohe Agglutination durch das Blutserum der Patienten; von einem Gärtner-Testserum wurden die isolierten Stämme bis zur Titergrenze agglutiniert. Mit den isolierten Bakterien her-

[1]) loc. cit.

gestelltes Kaninchenimmunserum agglutinierte einen echten Gärtnerstamm bis zur Titergrenze, Paratyphus- B-Stämme dagegen nur in weit geringerem Mafse.

Die Herkunft dieser pathogenen Keime mit Sicherheit festzustellen, war aus den angegebenen Gründen nicht möglich. Es ist anzunehmen, dafs in der Zeit zwischen 28.—30. April in der Metzgerei virulente Gärtnerbazillen sich fanden und durch Gebrauchsgegenstände, Hände etc. in die gekochten Fleischwaren gelangten. Sie fanden dann auf dem langsam abgekühlten Salzfleisch und im Innern der erst nach 14 Tagen verkauften Würste Gelegenheit zu reichlicher Vermehrung und Toxinbildung. Die Vermutung, dafs ein zur betreffenden Zeit geschlachtetes Schwein mit einem Abszefs im Nacken, das im übrigen gesund gewesen sein soll, mit dieser Infektion der Metzgerei in Zusammenhang steht, ist nicht sicher von der Hand zu weisen, wenn auch nach den Aussagen des Personals die Schwartenmagen schon am Tage vorher sollen fertiggestellt worden sein. Sehen wir von dieser Möglichkeit ab, so müssen wir annehmen, dafs die pathogenen Mikroorganismen von einem anscheinend gesunden Tiere oder von einem menschlichen Bazillenträger stammten. Verschiedene neuere Untersuchungen sprechen dafür, dafs derartige Bakterien gelegentlich im Darminhalt gesunder Tiere und in ganz unschädlichen Wurstwaren vorkommen.

Die vorliegende Epidemie ist durch einige Eigenheiten charakterisiert. Vor allem verdient hervorgehoben zu werden, dafs alle Erkrankungen nach Genufs von Fleischwaren auftraten, die in der Metzgerei gekocht worden waren; dafs dieses Material von verschiedenen Tieren stammte, aber zu den gleichen klinischen Erscheinungen führte. Es ist daher der Schlufs, dafs dasselbe erst nach dem Kochen infiziert wurde, berechtigt. Es zeigt dieser Fall wieder, dafs Kochen und oberflächliches Räuchern des Fleisches keinen absoluten Schutz gegen Fleischvergiftungen gewährt, dafs im Gegenteil gekochte Fleischwaren für die Vermehrung von Mikroorganismen günstige Bedingungen bieten. Eine Schuld konnte mit Bestimmtheit weder dem Metzger noch seinem Personal nachgewiesen werden. Immerhin zeigen die

vorliegenden Beobachtungen, wie wichtig eine peinliche Reinlichkeit in den Metzgereilokalen und eine genaue Kontrolle der Kühlanlagen ist. Auch sollte die beschriebene Epidemie noch zu einem weitern Vorgehen Veranlassung geben, nämlich zur Einführung eines besonderen Unterrichtsfaches in Nahrungsmittel- resp. Fleischhygiene für den Metzgerberuf und Berücksichtigung dieses Faches bei den Lehrlingsprüfungen.

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, ostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

M. v. GRUBER, FR. HOFMANN, K. LEHMANN, M. RUBNER

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

MÜNCHEN LEIPZIG WÜRZBURG BERLIN.

DREIUNDSIEBZIGSTER BAND. 3. u. 4. HEFT.



MÜNCHEN UND BERLIN.
VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1911.

Inhalt.

Seite

Das Schicksal der in die Blutbahn geschickten Bakterien. Von Dr. R. Arima, Professor extr. der Klinik. (Aus der Klinik für Phthisis der medizinischen Akademie in Osaka. Direktor: Professor A. Sata) 265

Sekretion, Kochsalzgehalt und Reaktion des Schweißes. Von stud. med. C. Kittsteiner, Würzburg. (Aus dem Hygienischen Institut Würzburg) . . . 275

Über einige praktisch wichtige Aldehyde (Formaldehyd, Azetaldehyd, Akrolein). Von Dr. N. Iwanoff, Assistent der K. militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg) 307

Untersuchungen über die Vibrioneninfektion des Meerschweinchens. Von Prof. Dr. Oskar Bail und Dr. S. Suzuki. (Aus der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der deutschen Universität Prag) 341

Über eine Fleischvergiftungsepidemie, bedingt durch den Genuß verschiedener Fleischwaren. Von med. pract. W. v. Gonzenbach und Dr. R. Klinger, Assistenten am Institut. (Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Direktor: Professor Dr. W. Silberschmidt) 380

In dem nächsten Hefte folgen:

Die gechlorten Kohlenwasserstoffe der Fettreihe nebst Betrachtungen über „die Giftigkeit ätherischer Körper bei Anwesenheit und Abwesenheit der flüssigen Phase“ (Einphasische und zweiphasische Giftigkeit) unter Mitwirkung der Herren: Dr. Val. Behr aus Urspringen, Dr. Würth aus Würzburg, Dr. Quadflieg aus Gaugelt, Frl. Dr. Franz aus Chemnitz, Dr. Georg Herrmann und Dr. Adolf Knoblauch aus Würzburg und Dr. Karl Gundermann, Assistent am Hygienischen Institut, von Prof. Dr. K. B. Lehmann. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

*Einsendungen beliebe man an **Geheimrat Professor Dr. Rubner, Berlin N. 4, Hessischestr. 3–4,** zu richten.*

Zur gefälligen Beachtung!

Vom 74. Bande ab wird das „Archiv für Hygiene“ in 8 statt in 4 Heften erscheinen. Diese werden je nach Bedarf, d. h. je nach dem vorliegenden Materiale, einzeln oder in Doppelheften zur Ausgabe gelangen Der Zweck dieser Änderung ist, die Veröffentlichung der eingeschickten Arbeiten möglichst zu beschleunigen und hierdurch einem oft geäußerten Wunsche unserer Herren Mitarbeiter und Leser entgegenzukommen. Der Gesamtumfang eines Bandes der Zeitschrift wird der gleiche bleiben.

Wir benützen diese Gelegenheit, unsere Herren Mitarbeiter in ihrem eigenen Interesse zu ersuchen, die Korrekturen stets möglichst prompt zu erledigen oder im Behinderungsfalle uns alsbald hiervon in Kenntnis zu setzen, damit durch Einschiebung anderer Arbeiten Verzögerungen im Erscheinen der fälligen Hefte vermieden werden können.

Manuskripte bitten wir stets an Herrn Geheimrat Prof. Dr. Rubner, Berlin W., Kurfürstenstr. 99a, Korrektursendungen an die Verlagsbuchhandlung R. Oldenbourg, München, Glückstr. 8, zu richten.

Redaktion und Verlag
des „Archiv für Hygiene“.



Verlagsbuchhandlung von Julius Springer
in Berlin N 24, Monbijouplatz 3.



Im Erscheinen begriffen ist: *Januar 1911.*

Biochemisches Handlexikon

Bearbeitet von

Dr. **H. Altenburg**-Basel, Prof. Dr. **I. Bang**-Lund, Prof. Dr. **K. Bartelt**-Peking, Dr. **Fr. Baum**-Berlin, Dr. **C. Brahm**-Berlin, Prof. Dr. **W. Cramer**-Edinburg, Privat-Dozent Dr. **K. Dieterich**-Helfenberg, Dr. **R. Ditmar**-Graz, Dr. **M. Dohrn**-Berlin, Dr. **H. Einbeck**-Berlin, Prof. Dr. **H. Euler**-Stockholm, Prof. Dr. **E. St. Faust**-Würzburg, Dr. **C. Funk**-Berlin, Prof. Dr. **O. v. Fürth**-Wien, Dr. **O. Gerngroß**-Berlin, Priv.-Doz. Dr. **V. Grafe**-Wien, Dr. **J. Helle**-Berlin, Hofrat Dr. **O. Hesse**-Feuerbach, Dr. **K. Kautzsch**-Berlin, Prof. Dr. **Fr. Knoop**-Freiburg i. B., Prof. Dr. **R. Kobert**-Rostock, Dr. **J. Lundberg**-Stockholm, Prof. Dr. **C. Neuberg**-Berlin, Priv.-Doz. Dr. **M. Nierenstein**-Bristol, Prof. Dr. **O. A. Oesterle**-Bern, Prof. Dr. **Th. B. Osborne**-New Haven, Connect., Dr. **L. Pincussohn**-Berlin, Dr. **H. Pringsheim**-Berlin, Dr. **K. Raske**-Berlin, Priv.-Doz. Dr. **B. v. Reinbold**-Koloszvár, Dr. **Br. Rewald**-Berlin, Dr. **A. Rollett**-Berlin, Dr. **P. Róna**-Berlin, Prof. Dr. **H. Rupe**-Basel, Priv.-Doz. Dr. **Fr. Samuely**-Freiburg i. B., Dr. **H. Scheibler**-Berlin, Priv.-Doz. Dr. **J. Schmid**-Breslau, Prof. Dr. **J. Schmidt**-Stuttgart, Dr. **E. Schmitz**-Frankfurt a. M., Prof. Dr. **M. Siegfried**-Leipzig, Dr. **E. Strauß**-Frankfurt a. M., Dr. **O. Thiele**-Berlin, Dr. **G. Trier**-Zürich, Prof. Dr. **W. Weichardt**-Erlangen, Prof. Dr. **R. Willstätter**-Zürich, Prof. Dr. **A. Windaus**-Freiburg i. B., Prof. Dr. **E. Winterstein**-Zürich, Dr. **Ed. Witte**-Berlin, Dr. **G. Zemplén**-Selmeczbánya, Priv.-Doz. Dr. **E. Zunz**-Brüssel.

Herausgegeben von

Professor Dr. Emil Abderhalden

Direktor des Physiologischen Institutes der Tierärztlichen Hochschule in Berlin

---

In sieben Bänden.

Bisher liegen vor:

III. Band. 1911. Preis M. 20.—, in Moleskin gebunden M. 22.50.
IV. Band, 1. Hälfte, 1910 (bis einschl. Polypeptide). Preis M. 14.—.
V. Band. 1911. Preis M. 38.—, in Moleskin gebunden M. 40.50.
VII. Band, 1. Hälfte, 1910 (bis einschl. Terpene). Preis M. 22.—.

Der **II. und VI. Band** erscheinen im Februar 1911.

Vorwort und Inhaltsübersicht des ganzen, ca. 250 Druckbogen umfassenden und in 7 Bänden erscheinenden Werkes umstehend.

Das ganze Werk soll noch im Jahre 1911 vollständig vorliegen.

Vorwort.

Wir besitzen im „Beilstein" ein Werk von unvergänglichem Werte, das uns über jede einzelne organische Verbindung lückenlos orientiert. Die Zahl der mitgeteilten Verbindungen übersteigt bereits 100 000! Unter diesen Stoffen befinden sich zahlreiche, die den physiologischen Chemiker und den auf verwandten Gebieten Arbeitenden besonders interessieren. Es sind dies alle in der Natur vorkommenden Stoffe. Diese unter der großen Zahl von ausschließlich im Laboratorium synthetisch dargestellten Körpern herauszufinden ist keine leichte Aufgabe und oft mit großen Zeitverlusten verknüpft. Wir besitzen mehrere Werke, welche uns über einige der wichtigsten Verbindungen dieser Art Auskunft geben. Es sei an das Werk von H. Thierfelder: Felix Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse usw., an die Deskriptive Biochemie von Sigmund Fränkel, an Olof Hammarstens physiologische Chemie erinnert. Dem Zwecke dieser Werke entsprechend sind nur die allerwichtigsten Verbindungen und einige ihrer charakteristischsten Derivate angeführt. Will man sich über irgend eine Gruppe von Verbindungen eingehendere Auskunft verschaffen, dann ist man genötigt, sich des „Beilsteins" zu bedienen oder die Originalliteratur nachzusehen. Nur für einige wenige Klassen von Verbindungen, wie z. B. für die Fette, Eiweißstoffe, Fermente usw., besitzen wir Monographien.

Je weiter die Forschung auf dem Gebiete der physiologischen Chemie fortschreitet, um so mehr lehnt sie sich in ihrer ganzen Forschungsart und ihren Arbeitsmethoden an die reine Chemie an. Die physiologische Chemie war und wird nie die ausschließliche Domäne des Mediziners werden. Bis vor kurzem verwandte der physiologische Chemiker im wesentlichen analytische Methoden zu seinen Arbeiten. Die Synthese blieb dem Chemiker von Fach überlassen. Jetzt wird hüben und drüben analytisch und synthetisch gearbeitet. Immer mehr beginnt auch der physiologische Chemiker sich der synthetischen Methoden zu bedienen. Seitdem Emil Fischer auf dem Gebiete der Eiweißchemie gezeigt hat, wie erfolgreich die Synthese beim Aufsuchen von komplizierteren Abbaustufen aus Proteinen sein kann, wird der Versuch, durch Aufbau mannigfaltiger Verbindungen den Nachweis von in der Natur vorkommenden Stoffen zu erleichtern, nicht mehr aus der Reihe der Aufgaben des physiologischen Chemikers verschwinden. Noch auf einem anderen Gebiete ist ein erfolgreicher Vorstoß mit Hilfe synthetischer Methoden unternommen worden, nämlich beim Studium des intermediären Stoffwechsels. Die Frage der Art des Abbaus bestimmter Verbindungen hat zur Darstellung einer großen Reihe von Körpern geführt, die gestatten, von Stufe zu Stufe zu verfolgen, an welcher Stelle des Moleküls die Zelle mit ihren Fermenten den Angriff eröffnet und über welche Stufen der Abbau führt. Ganz neue Probleme und zum Teil ganz unerwartete Ergebnisse folgten diesen Studien. Es sei nur an die erfolgreichen Untersuchungen von Neubauer über den Abbau aromatischer Säuren, an die Verfolgung des Abbaues von Fettsäuren durch Knoop, Friedmann u. a. und an die Arbeiten über die Bildung der Acetonkörper von Embden, Blum, Friedmann, Dakin u. a. erinnert. Endlich sei auch noch auf das große Gebiet der Fermentstudien hingewiesen. Seitdem Emil Fischer auf die Beziehungen zwischen Struktur resp. Konfiguration des Substrates und dessen Angreifbarkeit durch Fermente hingewiesen hat, sind auch hier für den physiologischen Chemiker eine Fülle von Problemen aufgetaucht, die er nur mit Hilfe synthetischer Arbeit nach allen Richtungen erschöpfen kann.

Diese wenigen Hinweise auf einzelne Arbeitsgebiete mögen zeigen, wie sehr der physiologische Chemiker heutzutage auf die Ergebnisse der reinen Chemie angewiesen ist. Er muß orientiert sein über das, was bereits erforscht ist. Es muß ihm die Möglichkeit geschaffen werden, auf jedem einzelnen Gebiete ohne großen Zeitverlust zu erfahren, welche Verbindungen bekannt sind, wie weit ihre Konstitution aufgeklärt ist, welche Derivate die wichtigsten und welche bis jetzt dargestellt sind. Auch die Ergebnisse der rein physiologischen Forschung müssen ihm zugänglich gemacht werden. Der physiologische Chemiker muß ebenso, wie der Chemiker, die Grenzen seines Arbeitsgebietes genau kennen und wissen, an welchen Stellen seine Arbeit einzusetzen hat.

Der Plan, ein Werk zu schaffen, das der Eigenart des Arbeitsgebietes des physiologischen Chemikers Rechnung trägt und über das gesamte Material der in der Natur vorkommenden Stoffe Aufschluß gibt, liegt schon mehrere Jahre zurück. Seiner Ausführung standen mancherlei Bedenken entgegen. Vor allem erschien es uns von manchen Gesichtspunkten aus bedenklich, dem so vorzüglich redigierten „Beilstein" ein in gewissem Sinne analoges Werk auf dem Gebiete der physiologischen Chemie zur Seite zu stellen. Dann kam hinzu, daß es

fast unmöglich ist, ein derartiges Werk lückenlos zu gestalten, ohne es seines Charakters zu berauben. Der physiologische Chemiker ist gewohnt, die einzelnen Verbindungen nach ihrer physiologischen Zusammengehörigkeit zu betrachten und erst in zweiter Linie nach ihrer chemischen Zusammensetzung. Unser Grundplan war, die Eigenschaften aller Verbindungen, die in der Natur vorkommen, zusammenzufassen, und zwar sowohl die chemischen, physikalischen als auch die physiologischen. Nur in einzelnen Fällen sind wir über diese Grenze hinausgegangen, und zwar dann, wenn es sich um Verbindungen handelt, die der physiologische Chemiker häufiger braucht; so sind z. B. die racemischen Polypeptide, racemische Aminosäuren und auch zum Teil Antipoden der in der Natur vorkommenden optisch-aktiven Aminosäuren aufgenommen worden, ebenso synthetisch aufgebaute Glucoside, die bis jetzt in der Natur nicht aufgefunden worden sind, ferner die Grundstoffe der Alkaloide usw.

Soweit es, ohne allzu häufige Wiederholungen, möglich war, sind die einzelnen Verbindungen in zusammengehörenden Gruppen abgehandelt worden. So finden sich die Proteine mit ihren Abbaustufen und ihren Bausteinen vereinigt, ferner die Fette, Phosphatide, Sterine usw. Nur im ersten Bande kommt eine mehr rein chemische Einteilung zum Durchbruch. Hier war eine gewisse Anlehnung an den „Beilstein" ganz unvermeidlich.

Das gewählte System der Einteilung des ganzen Stoffes hatte den Vorteil, daß es eine Gruppierung ergab, die dem physiologischen Chemiker geläufig ist, und ferner war es möglich, bestimmte Gebiete in einen Band zu vereinigen. Es bietet den Nachteil, daß Wiederholungen unvermeidlich waren, und daß manche Verbindungen wohl trotz aller Aufmerksamkeit fehlen dürften. Es betrifft dies in erster Linie diejenigen Körper, für die noch keine bestimmte Zugehörigkeit erwiesen ist. Bei einer fortlaufenden alphabetischen Anordnung des gesamten Materials oder bei einer Einteilung nach rein chemischen Gesichtspunkten wäre dieser Fehler viel eher vermieden worden.

Auch innerhalb der einzelnen Gebiete erfolgte die Anordnung, soweit das nach dem Stand der ganzen Forschung möglich war, in erster Linie nach der Zusammengehörigkeit der einzelnen Verbindungen.

Die Hauptschwierigkeit ergab sich bei der Abgrenzung des ganzen Materials und vor allem der Derivate. Der Plan, nur die wichtigsten Derivate anzuführen, scheiterte an der Unmöglichkeit, von Fall zu Fall zu entscheiden, welche Derivate aufzunehmen waren und welche nicht. Derivate, die dem einen Forscher unentbehrlich erscheinen, sind für einen anderen weniger wertvoll und umgekehrt. Es gab aus diesem Dilemma nur den einen Ausweg, nämlich alle Derivate zu bringen, sofern sie direkt mit den in der Natur vorkommenden Verbindungen in Zusammenhang stehen. Derivate von Derivaten sind im allgemeinen nicht aufgenommen worden.

Trotz aller Bemühungen ist es nicht gelungen, im ganzen Werke eine vollständige Einheitlichkeit zu erzielen. In manchen Gebieten macht sich die Individualität des Bearbeiters mehr oder weniger geltend, doch dürfte im allgemeinen überall der Grundplan — entsprechend dem Zweck des ganzen Werkes — uneingeschränkt zum Ausdruck kommen.

Bemerkt sei noch, daß bei der Darstellung der Methoden zur Gewinnung der einzelnen Verbindungen Rücksicht auf das Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden genommen worden ist. Besondere Sorgfalt wurde auf die Auswahl der Literatur gelegt. Im allgemeinen ist jede angeführte Tatsache mit einem Zitate belegt, so daß es leicht sein dürfte, sich von den einzelnen Angaben aus in der Originalliteratur weiter zu orientieren.

Das große Werk verdankt seine Entstehung in erster Linie der Bereitwilligkeit zahlreicher Fachgenossen, die Bearbeitung der einzelnen Gebiete zu übernehmen. Es gereicht mir zur großen Freude, auch an dieser Stelle ihnen allen für die unermüdliche Mitarbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen zu dürfen. Besonderer Dank gebührt vor allen aber den Forschern, die sich bereit finden ließen, ihr eigenes Arbeitsgebiet für dieses Werk zu bearbeiten und dadurch ihre persönlichen Kenntnisse und Erfahrungen zum Ausdruck zu bringen.

Zum Schlusse gebe ich dem Wunsche Ausdruck, es möchten mir Irrtümer und Lücken mitgeteilt werden. Fortlaufende Ergänzungsbände sollen das Werk stets auf der Höhe der Zeit erhalten.

Berlin, Juni 1910. **Emil Abderhalden.**

Inhaltsverzeichnis umstehend.

Inhaltsverzeichnis des Biochemischen Handlexikons.

Band I.

Kohlenstoff, bearbeitet von Dr. A. Thiele, Berlin.

Kohlenwasserstoffe, Petroleumarten, bearbeitet von Dr. Fr. Baum, Berlin.

Aliphatische Alkohole, bearbeitet von Dr. Otto Gerngroß, Berlin.

Aliphatische Säuren, Aldehyde und Ketone, bearbeitet von Dr. E. Schmitz, Frankfurt a. M., und Dr. A. Thiele, Berlin.

Aromatische Alkohole, bearbeitet von Dr. L. Pincussohn, Berlin.

Aromatische Säuren, bearbeitet von Dr. M. Dohrn und Dr. A. Thiele, Berlin.

Aromatische Aldehyde und Ketone, bearbeitet von Dr. Ed Witte, Berlin.

Phenole, bearbeitet von Dr. H. Einbeck, Berlin.

Aliphathische Amine und Diamine, Harnstoffgruppe, Fäulnisbasen mit Einschluß der Basen unbekannter Konstitution, bearbeitet von Dr. P. Rona, Berlin.

Schwefelhaltige Verbindungen, bearbeitet von Dr. Casimir Funk, Berlin.

Heterocyklische Verbindungen, bearbeitet von Dr. Karl Kautzsch, Berlin.

Band II.

Gummisubstanzen, Hemicellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminsubstanzen, bearbeitet von Privatdozent Dr. Victor Grafe, Wien.

Stärke, Dextrine, Inuline, Cellulosen usw., bearbeitet von Dr. G. Zemplén, Selmeczbánya.

Glykogen, bearbeitet von Prof. Dr. C. Neuberg und Dr. Bruno Rewald, Berlin.

Die einfachen Zuckerarten, bearbeitet von Prof. Dr. Carl Neuberg und Dr. Rewald, Berlin.

Stickstoffhaltige Kohlenhydrate, bearbeitet von Dr. G. Zemplén, Selmeczbánya.

Cyklosen, bearbeitet von Privatdozent Dr. Victor Grafe, Wien.

Glucoside, bearbeitet von Prof. Dr. Euler und Dr. Lundberg, Stockholm.

Band III.

Fette, Wachse, bearbeitet von Dr. Carl Brahm, Berlin.

Phosphatide, bearbeitet von Prof. Dr. Ivar Bang, Lund.

Protagon, Cerebroside, bearbeitet von Prof. Dr. Cramer, Edinburgh.

Sterine, bearbeitet von Prof. Dr. Windaus, Freiburg i. B.

Gallensäuren, bearbeitet von Prof. Dr. Knoop, Freiburg i. B.

Band IV.

Proteine der Pflanzenwelt, bearbeitet von Prof. Dr. Th. Osborne, New Haven, Connect.

Proteine der Tierwelt:

a) **Eigentliche Proteine,** bearbeitet von Privatdozent Dr. Franz Samuely, Freiburg i. B.

b) **Histone und Protamine,** bearbeitet von Dr. Rollett, Berlin.

c) **Albuminoide,** bearbeitet von Dr. E. Strauß, Frankfurt a. M.

Peptone und Kyrine, bearbeitet von Prof. Dr. Siegfried, Leipzig.

Oxydative Abbauprodukte der Proteine, bearbeitet von Prof. Dr. O. v. Fürth, Wien.

Polypeptide, bearbeitet von Dr. Karl Raske, Berlin.

Aminosäuren, bearbeitet von Dr. Pringsheim, Berlin, Dr. H. Scheibler, Berlin, Prof. Dr. E. Winterstein, Zürich, Dr. G. Trier, Zürich, und Dr. G. Zemplén, Selmeczbánya.

Nukleoproteide und Nukleinsäuren, bearbeitet von Dr. Rollett, Berlin.

Purin- und Pyrimidinbasen, bearbeitet von Dr. Carl Brahm, Berlin, und Privatdozent Dr. J. Schmid, Breslau.

Band V.

Alkaloide, bearbeitet von Professor Dr. J. Schmidt, Stuttgart.

Tierische Gifte, bearbeitet von Prof. Dr. E. St. Faust, Würzburg.

Produkte der inneren Sekretion, bearbeitet von Prof. Dr. v. Fürth, Wien.

Antigene, bearbeitet von Prof. Dr. W. Weichardt, Erlangen.

Fermente, bearbeitet von Privatdozent Dr. Edgar Zunz, Brüssel.

Band VI.

Pflanzenfarbstoffe, bearbeitet von Prof. Dr. Rupe und Dr. H. Altenburg, Basel.

Chlorophyll, bearbeitet von Prof. Dr. Willstätter, Zürich.

Tierische Farbstoffe:

Hämoglobin, Gallenfarbstoffe, Urobilin, bearbeitet von Privatdozent Dr. Béla von Reinbold, Kolozsvár.

Melanine und andere Farbstoffe, bearbeitet von Privatdozent Dr. Franz Samuely, Freiburg i. B.

Band VII.

Gerbstoffe, bearbeitet von Privatdozent Dr. Nierenstein, Bristol.

Flechtenstoffe, bearbeitet von Hofrat Dr. O. Hesse, Feuerbach.

Saponine, bearbeitet von Prof. Dr. Kobert, Rostock.

Bitterstoffe, bearbeitet von Prof. Dr. O. A. Oesterle, Bern.

Terpene, bearb. v. Prof. Dr. Bartelt, Peking.

Ätherische Öle, bearb. von Dr. Helle, Berlin.

Harze, bearbeitet von Privatdozent Dr. Karl Dieterich, Helfenberg.

Harzalkohole, bearbeitet von Dr. L. Pincussohn, Berlin.

Harzsäuren, bearbeitet von Dr. Dohrn und Dr. Thiele, Berlin.

Kautschuk, bearbeitet von Dr. Rud. Ditmar, Graz.

20. 1. 11. 420.

Hierzu eine Beilage von **Julius Springer, Verlagsbuchhandlung in Berlin.**


UNIVERSITY OF MICHIGAN
3 9015 04551 8142